

衛生微生物技術協議会第44回研究会（東京） レファレンスセンター等報告

日時：令和6年7月10日-7月11日

場所：東京都江戸川区 タワーホール船堀 現地開催 もしくは Zoom等のweb開催

1. 麻しん・風しん
2. HIV関連
3. インフルエンザ
4. レンサ球菌
5. カンピロバクター
6. 結核
7. アルボウイルス
8. エンテロウイルス
9. ノロウイルス
10. レジオネラ
11. 薬剤耐性菌
12. 寄生虫
13. リケッチア
14. アデノウイルス
15. 大腸菌
16. 百日咳・ボツリヌス
17. 動物由来感染症

1. 麻しん・風しん

令和6年（2024年）7月10日(水) 9:00～9:55

麻疹・風疹レファレンスセンター会議

タワーホール船堀4階 研修室

麻疹・風疹レファレンスセンター 会議報告

世話人

国立感染症研究所ウイルス第三部

森 嘉生

令和6年（2024年）7月10日(水) 9:00～9:55

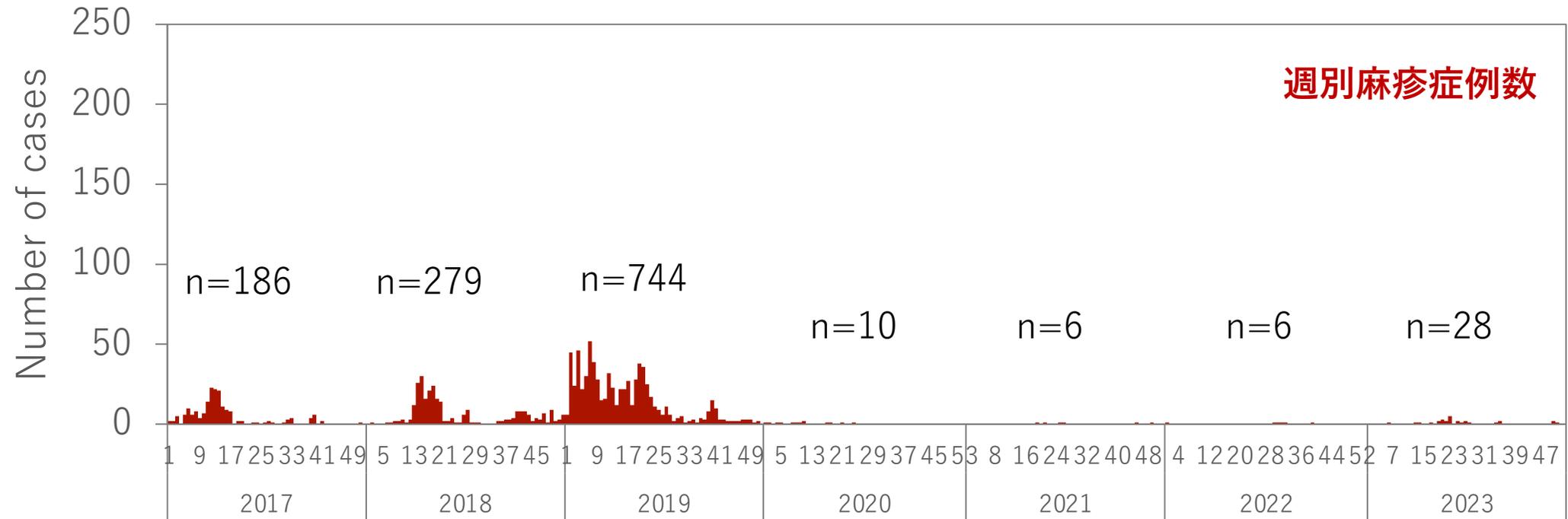
麻疹・風疹レファレンスセンター会議

タワーホール船堀4階 研修室

麻疹の発生状況まとめ

国立感染症研究所
ウイルス三部

国内の麻疹発生状況（2017-2023年）



新型コロナ流行による渡航制限が解除された後増加傾向であると考えられる

2023年 国内検出麻疹ウイルスの遺伝子型など

遺伝子型	由来				合計	
	輸入例	国内・輸入関係 症例などその他		不明		
B3	0	0		0	0	
D8	6	6		9	21	
遺伝子型不明	1	1		5	7	
Total	7	7		14	28	

遺伝子型が決定されたウイルスは全て遺伝子型D8
得られた配列は合計8種であった

その他

参照RNAの配布

- 2022年度 5件
- 2023年度 16件
- 2024年度 3件

地方衛生研究所にて参照RNAが必要な場合はウイルス3部 までご連絡ください。

発送は乾燥状態のRNAの発送となり原則普通郵便でお送りいたします。

麻疹・風疹両方の参照RNAが必要な場合は、風疹または麻疹までその旨ご連絡いただければ同梱して発送します。

全ゲノム解析について

現在AMED研究班：「麻疹・風疹排除に資する持続可能なサーベイランスに関する研究」にて検討中です

麻疹ウイルスMF-NCR塩基配列解析について

M/F-NCR領域のシーケンス解析について今後の予定

- ✓ M/F-NCR領域のシーケンス解析については補助的に利用することは分子疫学解析としてある程度有用
- ✓ 解析自体を必須とは考えていないが、各地衛研等で容易に解析が可能となるように病原体検査マニュアルへのプロトコールの記載を前向きに検討する
- ✓ また広域発生時や疫学リンク等がないにも関わらず同一のN450配列が検出された場合はM/F-NCR配列解析が国内発生の実態解明につながる可能性があるため感染研側から検体の分与をお願いすることがある（検体や抽出RNAを一定期間保存していただくと助かります）

リアルタイムRT-PCR プライマーミスマッチについて

2019年終わり頃から検出されている麻疹ウイルス株の一部で現在使用している検出用リアルタイムPCR用プライマーでミスマッチが生じている

これまで主に中央アジア（カザフスタンやキルギスタンなど）で検出されているが、輸入例を発端としてとしてギリシア・スイス等ヨーロッパでも広がりつつある

参考文献

Eurosurveillance Volume 29, Issue 5, 01/Feb/2024 Article

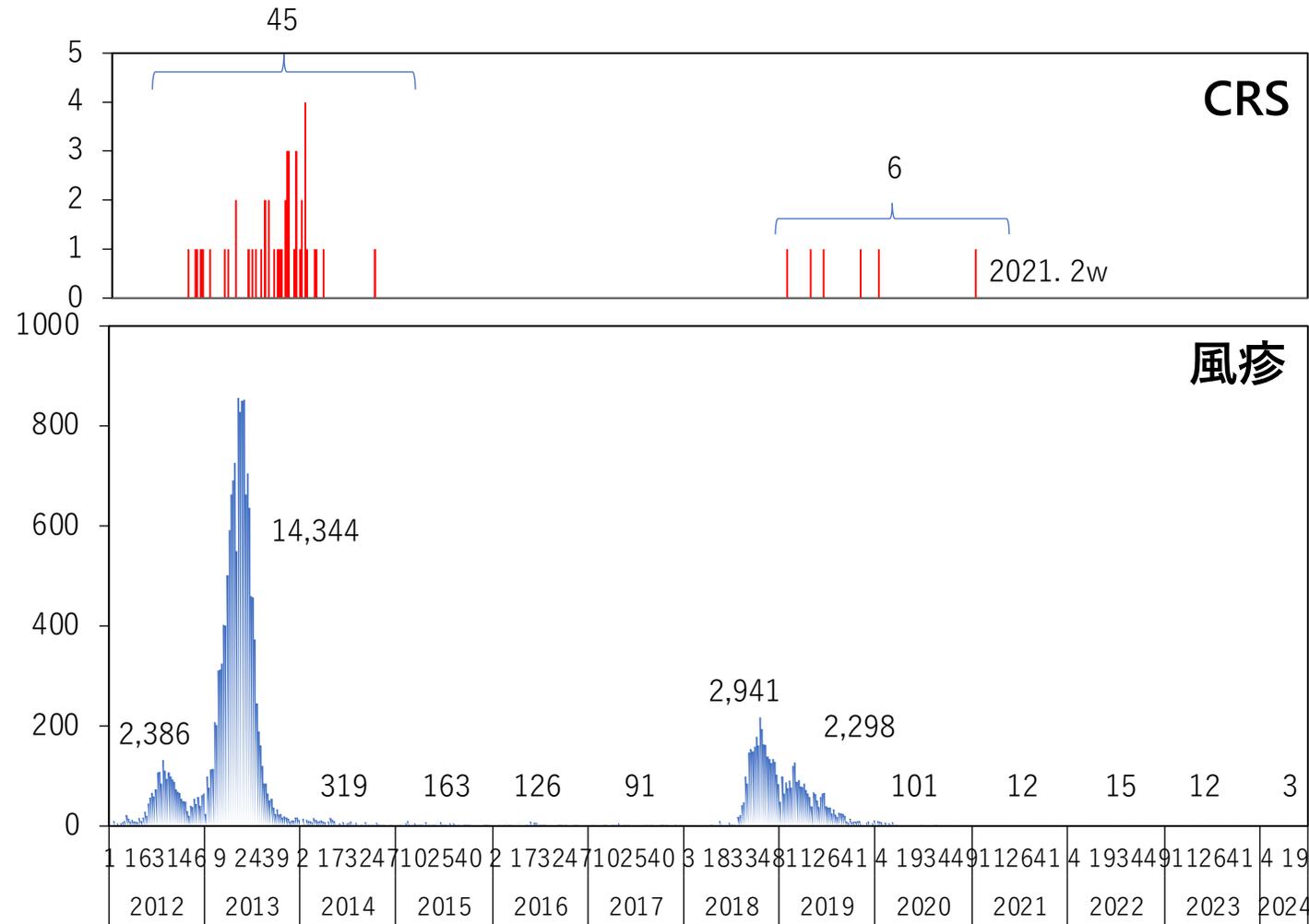
<https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2024.29.5.2400034>

プライマーミスマッチ株への現状での対応方針

- ✓ 病原体検査マニュアルWHOの動向を確認しつつmixプライマーへの変更を検討
- ✓ 現在のプライマーでも検出に大きな影響は大きくないようなので現段階では積極的に変更を勧めるものではない
- ✓ Ct値は若干低くなる可能性があるので注意は必要
- ✓ 特に中央アジアからの帰国者などの疑い例では注意する

風疹発生状況のまとめ

週別風疹およびCRS患者報告数 (2012-2024.25w)



IDWR 2024.7.2時点のデータ
を使用して作図

2021年以降の風疹ウイルスの検出について

- 2021年～2024年第25週の期間において、風疹患者は43例報告（2024.6.26時点）
- うち、検査診断例は39例：風疹IgM陽性38例、風疹IgM判定保留1例
- 43例中、22例はPCR検査実施 → 陽性1例のみ
（2022年、遺伝子型決定できず、発疹出現2週間前に風疹ワクチン接種）

ヒトRNase P遺伝子検出系の麻疹風疹検査への導入について

背景

- 麻疹・風疹の排除認定には、「質の高いサーベイランスシステムの存在」が必須である。
- 麻疹・風疹検査法については、WHO Global Measles and Rubella Laboratory Network (GMRLN)が標準化を進めており、各国はそれに準じて検査を行うことが求められている。
- GMRLNでは、リアルタイムRT-PCR検査において「**内在性コントロール**」を使用することが強く推奨している。



内在性コントロールのヒト遺伝子が検出される場合、検体が適切に採取・処理されたことを示す。

特に麻疹ウイルス、風疹ウイルス検出が陰性であった場合に、その結果を確実に担保できる。

- 国内の麻疹風疹リアルタイムRT-PCR検査において、内在性コントロールとして**ヒトRNase P遺伝子**の同時検出を行う方法を、AMED研究班「麻疹・風疹排除に資する持続可能なサーベイランスに関する研究」（代表・森嘉生）の分担班（調恒明先生）において確立した。

マルチプレックス
Real-time RT-PCR

麻疹ウイルス検出プライマー・プローブ
(VIC)

風疹ウイルス検出プライマー・プローブ
(FAM)

RNase P検出プライマー・プローブ
(Cy5)

病原体検出マニュアルへの掲載方法

- 麻疹・風疹同時検査法 第2版
- 付録として掲載
- 「**症例の検査診断が感染対策に重要である場合は、リアルタイムRT-PCRアッセイに参照遺伝子を使用することを強く推奨する**」とし、状況に応じて実施することを判断していただく
- 現在、病原体検出マニュアルの改訂作業中
- RNase P遺伝子の参照RNA（ポジティブコントロール）は感染研ウイルス第三部より配布可能

その他 今年度の予定

- 令和6年度 厚生労働省外部精度管理事業
課題2 麻疹・風疹ウイルスの遺伝子解析
- 令和6年度 AMED研究班「麻疹・風疹排除に資する持続可能なサーベイランスに関する研究」（研究代表者：国立感染症研究所 森嘉生、研究分担者：国立感染症研究所 岡本貴世子）
麻疹・風疹実験室検査法の実地研修（2024/11/28-29予定）
- 2024年 麻疹風疹CRS検査実績調査（2025.1月予定）

2. HIV関連

HIV関連感染症（発表内容の概要）

1. 病原体検出マニュアル（HIV感染症）改訂の概要
国立感染症研究所エイズ研究センター 松岡佐織
2. 改訂の視点：地方衛生研究所のアンケート調査結果
大阪健康安全基盤研究所 川畑拓也先生
3. HIV検査診断薬に関する情報提供
神奈川衛生研究所 佐野貴子先生
4. HIV-NAT精度管理調査の案内
国立感染症研究所エイズ研究センター 草川茂先生
5. 質疑応答

HIV確認検査に関するアンケート調査結果

厚生労働科学研究費補助金エイズ対策政策研究事業
「HIV検査体制の改善と効果的な受検勧奨のための研究」
研究代表者 今村顕史（東京都立駒込病院）
研究分担者 加藤眞吾（（株）ハナ・メディテック）

目的

全国の保健所で実施されている無料匿名HIV検査の確認検査に関して、
地方衛生研究所における検査体制・実施状況について調査を行い、
今後のさらなる検査体制充実に向けた資料とする。

方法

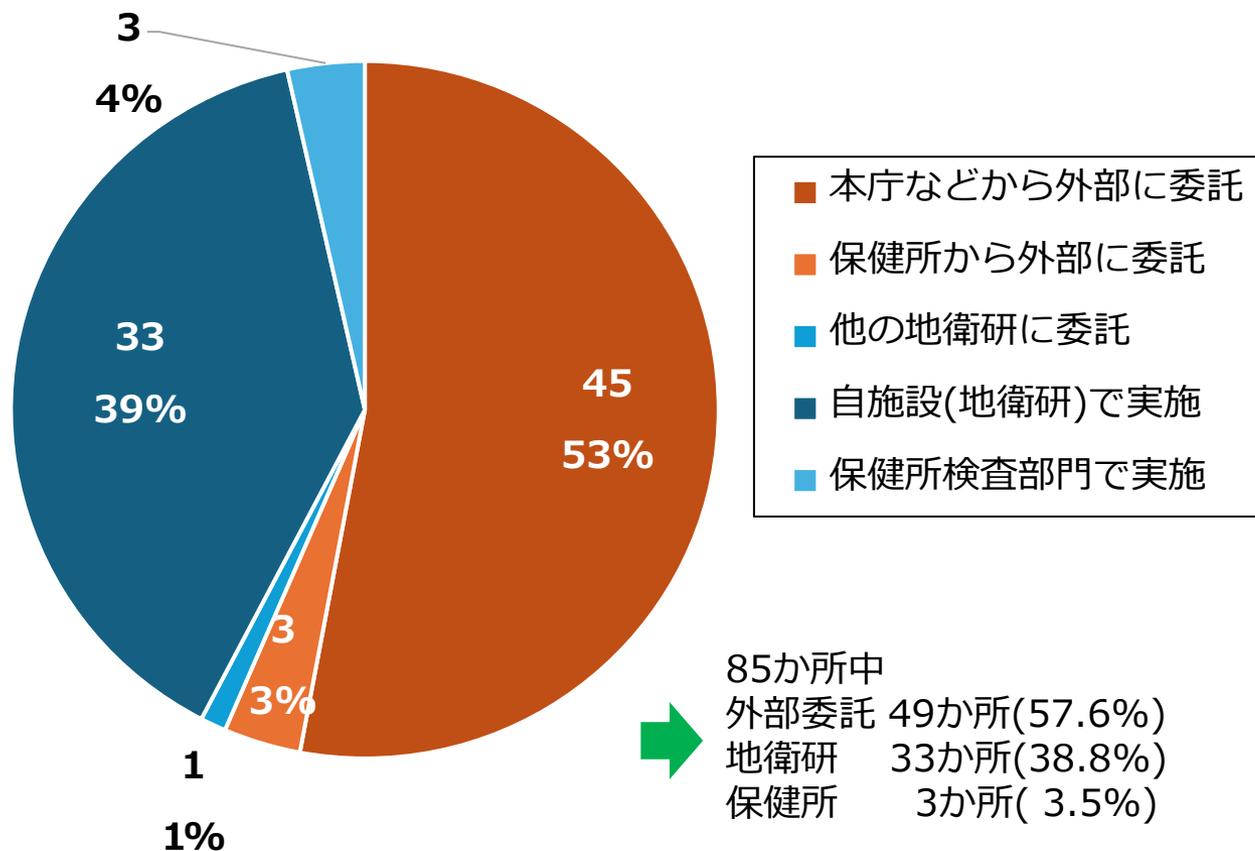
調査対象：地方衛生研究所全国協議会 加盟地方衛生研究所（85ヶ所）

調査期間：2023.8.21～8.31

調査方法：記名・自記式質問紙調査

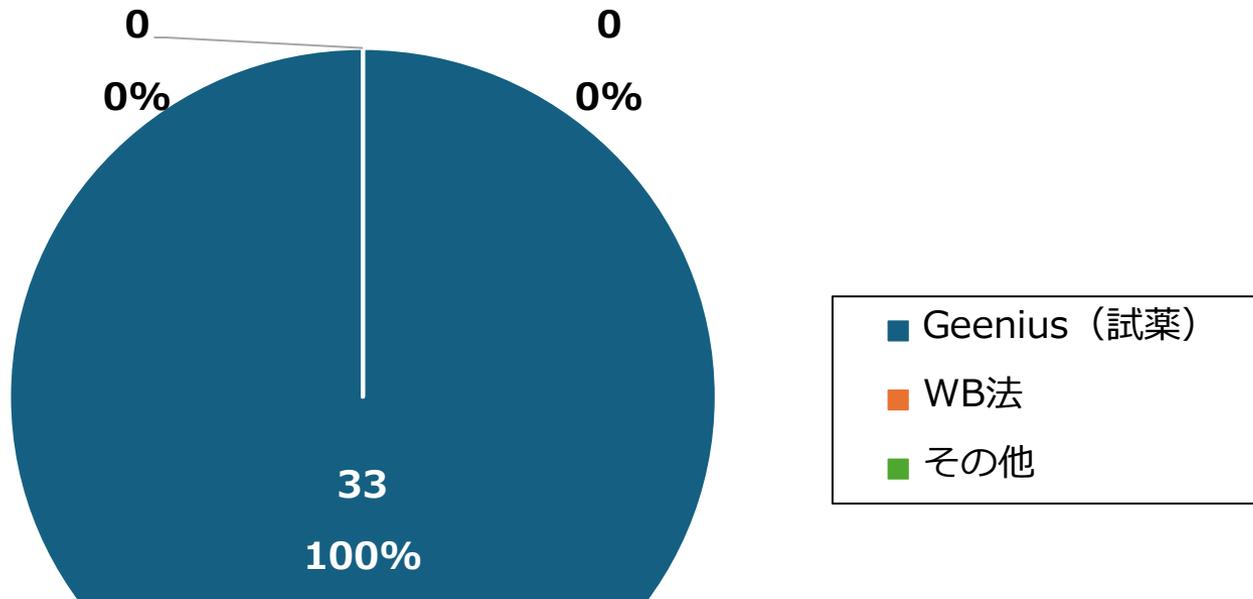
- ・ 質問紙は、地方衛生研究所が所属するメーリングリスト（「地研メール」）を通じ配布。
- ・ 回収はメール・FAXを選択。
- ・ 研究利用の可否を質問。

Q2 : HIV確認検査の実施施設



以降、自施設で確認検査を実施している33か所の地衛研の回答まとめ

Q3：現在実施している抗体確認検査法



➡ 確認検査を実施している
地衛研はすべて
Geenius試薬を使用

病原体検出マニュアル(HIV感染症)の改訂点の概要

2024年秋以降公開を目指して準備中

- 承認診断薬の新規承認・終売・適応変更等の情報を更新
- Geeniusの本格導入・WB法の終了に伴う変更点
- 核酸増幅法(NAT)の更新

Geenius導入に伴う変更点については、下記のようなスクリーニング検査結果を含む検査結果例を追加することを予定しています。

(例) 2019年11月公開版、17-21ページ

※ R5年度衛微協にて資料として配布

Geenius HIV 1/2

<p>Sample ID: 256 Cassette ID: 17F002906269 Kit Lot - Exp. Date: 7F0029 - 5/2/2019 Order date: 2/22/2019 19:31:37 Analysis date: 2/22/2019 19:31:39 Test run by: Supervisor - Test version: 1.2-OUS Rule(s): HIV-2 Criteria - HIV-1 Criteria</p>	<p>Reader S/N: DP6H01108 Geenius version: 1.2.201.001 Last Calibration: 2/22/2019 19:16:16</p>	<p>Controls Lot number: NC18A0033190109 Last run on: 12/12/2018 11:20:19 Lot number: PC18A0033190109 Last run on: 12/12/2018 11:21:01</p>
--	--	--

Image



Interpretation

Interpretation type: Automatic

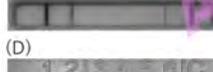
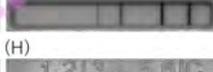
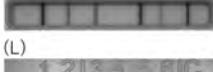
Band analysis:

#	Name	Result
1	gp36	Absent
2	gp140	Absent
3	p31	Absent
4	gp160	Absent
5	p24	Absent
6	gp41	Absent
7	CTRL	Present

Conclusion: HIV NEGATIVE

Status: Validated by: Supervisor -

最終判定結果は？

(A)	(E)	(I)
		
(B)	(F)	(J)
		
(C)	(G)	(K)
		
(D)	(H)	(L)
		

結果解釈の解説は感染研・松岡又は草川まで
衛研協第43回研究会レファレンスセンター関連会議 (HIV関連) 5



総合的な解釈の一助として活用して下さい。

図 5-4 Geenius リーダーを用いた判定結果の例 (Geenius 陰性、HIV-1NAT 陽性例)

ICによる検査陽性(追加スクリーニング検査陽性)、HIV-1 核酸増幅検査陽性、WB 陰性の検体である。バンドが検出されず陰性の結果であるが、第 4 世代スクリーニング検査陽性の場合は、HIV-1 核酸増幅検査の実施が必要である。IC のみの結果で、Geenius HIV-1/2 キットを実施し本結果の場合、追加スクリーニング検査(第 4 世代キット)を実施する。

ダイナスクリーン **HIV Combo**に
関する情報提供

ダイナスクリーン HIV Comboの偽陽性例について

神奈川衛研 ダイナスクリーン HIV Combo 偽陽性 2023年度、2024年4-6月

検査日	検体名	区分	Combo Ag	Combo Ab
2023/6/29	GM4610	一般依頼	+	±
2023/8/17	GM4612	一般依頼	-	±
2023/10/26	GM4622	保健所	-	±
2024/1/17	GM4626	保健所	+	-
2024/3/16	GM4629	特設検査	±	-
2024/4/24	GM4632	保健所	±	-
2024/5/31	GM4635	一般依頼	±	±
2024/6/19	GM4637	保健所	-	±

2023年度

神奈川県保健所等検査 陽性率・偽陽性率

神奈川県	検体数	陽性数	偽陽性数
保健所	591	2 (0.34%)	2 (0.34%)
特設検査	264	3 (1.14%)	1 (0.38%)

抗原
偽陽性



抗体
偽陽性



ダイナスクリーン HIV Comboの展開不具合について

ダイナスクリーン HIV Comboの展開不具合 （他自治体からの情報提供）

ロット番号：0000693565

使用期限：2024年8月6日

- ・ 55件中4件が血漿を滴下しても展開しなかった
- ・ 同じロットの新たな試薬で再検査したところ、問題なく検査できた
- ・ メーカーに相談したところ、他施設から同様の報告があったかなどの情報提供はしてもらえなかった

（メーカーから20回用試薬の提供があった）

★不具合が起きた場合には、原因究明や試薬改良のためにも、不具合等の状況についてメーカーに連絡を入れることが望ましい

Geenius HIV 1/2 キットに関する 情報提供

スクリーニング検査を行わずにGeeniusを実施して、総合判定でHIV-1陽性となったGeenius偽陽性事例

50代男性

X年Y月 感染性心内膜炎のため都内拠点病院A病院で弁置換術施行された
X+1年Z月 県内のB病院へ転院
カンジダ血症・眼内炎を発症
Z+2月 眼内炎手術目的でC病院へ転院
術前検査でHIVスクリーニング検査を実施せず、検査センターにHIV-1特異抗体検査を依頼し、HIV-1陽性との結果を受け取る
Z+3月 **HIV-1陽性のため、エイズ拠点病院であるD病院へ紹介・転院**

HIV-1 特異抗体 (Geenius) 結果			
HIV-1	p24	(-)	陽性
	p31	(+)	
	gp41	(+)	
	gp160	(-)	
HIV-2	gp36	(-)	判定保留
	gp140	(+)	

<Geenius
総合判定>
HIV-1陽性



D病院
CD4 785/ μ L、HIV-1 RNA検出せず
(後日聞き取り)
A病院 HIVスクリーニング陰性
B病院 HIVスクリーニング陰性
Geeniusの偽陽性例であることが判明

これまでの添付文書には『スクリーニング検査陽性検体についてGeeniusを実施する』との記載は無く、本症例のようにHIV検査として直接、Geeniusを実施する事例も起こり得た。バイオラッド社において、上記事項を添付文書に記載予定であることが確認された。

Geeniusの添付文書改訂（2024年5月）

2024年6月21日に独立行政法人 医薬品医療機器総合機構（PMDA）の添付文書掲載サイトへ掲載
(第2版)

体外診断用医薬品 2020年7月作成(第1版) (第1版)

BIO-RAD

32003-PI01 承認番号:23000EZK00058000

ヒト免疫不全症ウイルス1抗体確認キット
ヒト免疫不全症ウイルス2抗体確認キット
Geenius HIV 1/2 キット
(Geenius™ HIV 1/2 Confirmatory Assay)

■ 操作上の注意

1. 測定検体及び採取法
本品による測定は、全血、血清又は血漿を使用してください。その他の検体種を使用した場合は、正確な結果が得られない可能性があります。

2) 全血
・ クエン酸ナトリウム、ヘパリンナトリウム又はEDTA採血管を使用してください。
・ 検体を採取する前によく混和してください。
・ ビベット等を用いて15 µLを採取してください。
・ 操作方法に従い、速やかに試験を実施してください。
・ すぐに測定ができない場合は、2~8℃で採血後3日間保存が可能です。
・ 凍結しないでください。

2) 全血(指先)
・ 指を消毒し、乾かしてください。
・ ランセットで指先の中央を穿刺後、初めの1滴は滅菌ガーゼで拭き取ってください。
・ 血液が組織液で希釈される可能性があるため、血液を絞りすぎないでください。
・ 2滴目を付属のマイクロチューブを用いて採血してください。
・ 操作方法に従い、速やかに試験を実施してください。

■ 全般的な注意

1. 本品は、体外診断用医薬品ですので、それ以外の目的に使用しないでください。

2. 添付文書に記載の使用方法に従ってください。それ以外の使用で得られたデータについては保証を致しかねます。

3. 診断は他の関連する検査結果や臨床症状等に基づいて総合的に判断してください。

4. 緩衝液には、保存剤としてアジ化ナトリウムが含まれています。誤って目や口に入ったり、皮膚に付着した場合には水で十分に洗い流す等の応急処置を行い、必要があれば医師の診察を受けてください。

5. 使用する機器の添付文書及び取扱い説明書をよく読んでください。

■ 形状・構造等(キットの構成)

ラベル	成分
デバイス Device	gp36 ペプチド、gp140 ペプチド、p31 ペプチド、gp160 リコンビナントタンパク、p24 リコンビナントタンパク、gp41 ペプチド、プロテイン A、金コロイド標識プロテイン A
緩衝液 Buffer	クエン酸ナトリウム

日本語の添付文書にはスクリーニング検査陽性例についてGeeniusを使用することの記載がなかった

■ 使用目的
全血、血清又は血漿中の HIV-1 特異抗体及び HIV-2 特異抗体の検出（ヒト免疫不全ウイルス感染の診断補助）

■ 使用目的
全血、血清又は血漿中の HIV-1 特異抗体及び HIV-2 特異抗体の検出 (ヒト免疫不全症ウイルス感染の診断補助)

妨害物質・妨害薬剤
検出した各物質について、以下の表に示す濃度では判定に影響を及ぼしませんでした。

添加物質	濃度 (mg/dL)
ビリルビン	20
ヘモグロビン	204
トリグリセライド	3,334
アルブミン	12,000

交差反応性
交差反応を示す可能性のある疾患あるいは状態の検体を用いて測定したとき、偽陽性を示すかどうか検討したところ、以下のとおり結果となりました。マリアア検体において、HIV-1、HIV-2 あるいはその両方で判定保留を示し、交差反応の可能性が示唆されました。

検体	偽陽性数 / 検体数	検体	偽陽性数 / 検体数
ヒト T 細胞白血病ウイルス II	0/20	血友病	0/10

体外診断用医薬品 *2024年5月作成(第2版) 2020年7月作成(第1版)

BIO-RAD

32003-PI02 承認番号:23000EZK00058000

ヒト免疫不全症ウイルス1抗体確認キット
ヒト免疫不全症ウイルス2抗体確認キット
Geenius HIV 1/2 キット
(Geenius™ HIV 1/2 Confirmatory Assay)

【重要な基本的注意】
本品は、HIV-1及びHIV-2特異抗体の検出を目的としております。スクリーニング検査にてHIV陽性もしくは判定保留と判定された検体に対してご使用ください。

■【重要な基本的注意】
本品は、HIV-1及びHIV-2特異抗体の検出を目的としております。スクリーニング検査にてHIV陽性もしくは判定保留と判定された検体に対してご使用ください。

■ 全般的な注意

1. 本品は、体外診断用医薬品ですので、それ以外の目的に使用しないでください。

2. 電子化された添付文書に記載の使用方法に従ってください。それ以外の使用で得られたデータについては保証を致しかねます。

3. 診断は他の関連する検査結果や臨床症状等に基づいて総合的に判断してください。

4. 緩衝液には、保存剤としてアジ化ナトリウムが含まれています。誤って目や口に入ったり、皮膚に付着した場合には水で十分に洗い流す等の応急処置を行い、必要があれば医師の手当てを受けてください。

5. 使用する機器の添付文書及び取扱い説明書をよく読んでから使用してください。

■ 形状・構造等(キットの構成)

ラベル	成分	規格
デバイス Device	gp36 ペプチド、gp140 ペプチド、p31 ペプチド、gp160 リコンビナントタンパク、p24 リコンビナントタンパク、gp41 ペプチド、プロテイン A、金コロイド標識プロテイン A	20 枚
緩衝液 Buffer	クエン酸ナトリウム	1 本 (5 mL)

付属品: マイクロチューブ 15 µL (20本)

<形状>

ウェル2 テストエリア コントロールエリア

2. 妨害物質・妨害薬剤
検出した各物質について、以下の表に示す濃度では判定に影響を及ぼしませんでした。

添加物質	濃度 (mg/dL)
ビリルビン	20
ヘモグロビン	204
トリグリセライド	3,334
アルブミン	12,000

スクリーニング検査で陽性となりGeeniusを実施して、総合判定でHIV-2陽性になったGeenius偽陽性事例

スクリーニング検査

- ・アーキテクト 陽性
 - ・ジェンスクリーン 陰性
 - ・ダイナスクリーン 陰性
 - ・HISCL 陰性
- カットオフ値よりわずかに高い値
後日実施

HIV-1 特異抗体 (Geenius) 結果			
HIV-1	p24	(-)	陽性
	p31	(+)	
	gp41	(+)	
	gp160	(-)	
HIV-2	gp36	(+)	陽性
	gp140	(+)	

<Geenius総合判定>

HIV-2陽性
(with HIV-1 cross-reactivity)



感染研

HIV-1 NAT (-)

HIV-2 NAT (-)

Geeniusの
偽陽性例と判定

スクリーニング検査陽性でGeeniusでも陽性となった場合、確認検査陽性との判定となる。Geeniusは簡便であるが、偽陽性もありうることから、スクリーニング検査の陽性結果の力価が低い場合やバンドが薄い場合は、HIV-1核酸増幅検査の実施も考慮すべきと考える。

HIV-1定性核酸増幅法に関する情報
(2024年秋改訂版に追加予定の新法の概要)

HIV-NAT精度管理調査の案内

HIV-1核酸増幅検査が必要となるケース

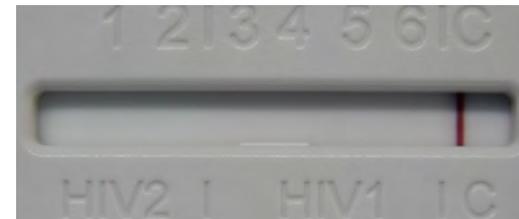
ダイナスクリーン(ICA)
抗原陽性・抗体陰性



追加スクリーニング検査
第4世代診断薬陽性

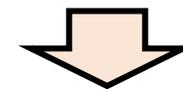


Geenius HIV 1/2
陰性判定or判定保留



第4世代診断薬使用が難しい
Geenius HIV 1/2適用不可？
抗原バンド検出が感染急性期を
検出しているのか、偽陽性なのか
確認しておく必要がある

感染急性期疑い



確認検査補助手段としてHIV-1核酸増幅検査法

HIV-1 定性核酸増幅検査法(QL-NAT)



RNA抽出
血漿: 150 μ L
溶出: 50 μ L



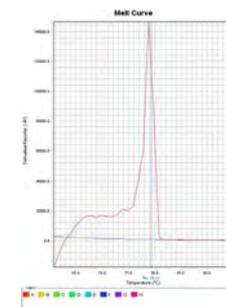
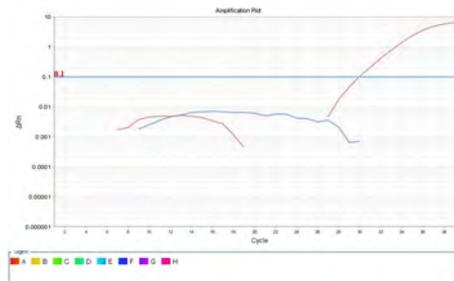
コンベンショナルなRT-PCR法による特異的増幅の検出



—122 bp

病原体検出マニュアル改訂予定

リアルタイムRT-PCR法 (インターカレーター法) による
特異的増幅の検出



Kusagawa S et al. Heliyon (2024) 10(2):e24451
<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e24451>

あえてインターカレーター法を採用した理由

【TaqMan法の長所】

- ・ 反応特異性が高い → 非特異的な増幅を検出するリスクが低い
→ 条件の至適化により検出感度を高めることが容易

【TaqMan法の短所】

- ・ TaqManプローブが高価
- ・ TaqManプローブの使用期限が短い

【インターカレーター法のRT-qPCR試薬は】

- ・ TaqManの試薬と1反応当たりの値段が変わらない or 安い
 - ・ 一つの試薬でプライマーを変えるだけで様々な病原体検出に使える
- 高検出感度を求めないのであれば、年あたりのHIV確認検査数は少ないが、限られた予算で様々な病原体検出に対応する検査施設に向いている？
- アガロースゲル電気泳動を用いたエンドポイントの検出にも対応可能、購入・メンテナンス費用がかかる高価な測定装置を準備する必要が無い（ただし、検出までに少々時間を要する）

標準物質・管理検体を用いたHIV-1 QL-NAT性能の検討

1. HIV-1 NAT用標準物質18-00希釈列を用いた検出感度の検討

QL1: 389 copies/mL

QL2: 838 copies/mL

2. HIV-1 subtype/CRF/group管理検体を用いた検出感度の検討

QL1, QL2共、少なくとも1,000 copies/mLまでは検出可能

QL1はHIV-1 group O管理検体を他のsubtype/CRFと同じ検出感度で検出

3. 特異度の検討

QL1, QL2共、HIV陰性106検体の測定で特異的な増幅は検出されなかった

Table 2 (continued)

Sample	HIV-1 type	RNA copies cp/mL	QL1				QL2				Kondo et al. [5]		Kaur et al. [4]	
			Exp. 1		Exp. 2		Exp. 1		Exp. 2		Exp. 1	Exp. 2	Exp. 1	Exp. 2
			Ct	Tm ¹	Ct	Tm	Ct	Tm	Ct	Tm	Ct	Ct	Ct	Ct
18CF06	Group O	3000	29.61	80.29	29.68	79.80	UD	61.80	UD	64.27	UD	UD	UD	UD
		1000	31.38	80.29	33.35	80.29	UD	61.80	UD	64.27	UD	UD	UD	UD
		300	32.84	80.29	35.19	79.80	UD	61.80	UD	61.81	UD	UD	UD	UD
		100	35.22	80.29	UD	60.74	UD	61.80	UD	61.81	UD	UD	UD	UD
1-2478B		3000	28.85	79.80	28.85	78.81	UD	61.82	UD	61.29	UD	UD	UD	UD
		1000	31.18	79.80	31.28	78.81	UD	61.82	UD	62.28	UD	UD	UD	UD
		300	31.89	79.80	32.88	78.81	UD	61.29	UD	62.28	UD	UD	UD	UD
		100	33.55	79.80	34.56	78.81	UD	61.29	UD	62.28	UD	UD	UD	UD

第3回HIV-1核酸増幅検査法の外部精度管理調査(EQA)

【目的】

HIV-1 NATを実施あるいはこれから導入を検討する衛生研究所の検査精度確認のため、測定用検体を提供し、その測定結果を取りまとめてフィードバックする。

詳細は、あらためて文書にて連絡させていただきます。

不活化HIV-1をスパイクし作製した陽性検体と陰性検体を併せて10検体程度提供、3回測定した結果を回答いただき、結果を取りまとめる予定です。

検体は無償で提供しますが、RNA抽出・RT-PCRに必要な試薬等は参加施設のご負担となります。

これからHIV-1 NAT導入を検討する施設の参加も歓迎します。

今回紹介させていただいた「QL-NAT（定性核酸増幅検査法）」のプライマーを提供させていただきます。希望される施設はEQA申し込みの際にお知らせください。

3. インフルエンザ

インフルエンザ・レファレンス等関連会議

2024年6月27／28日 オンライン開催

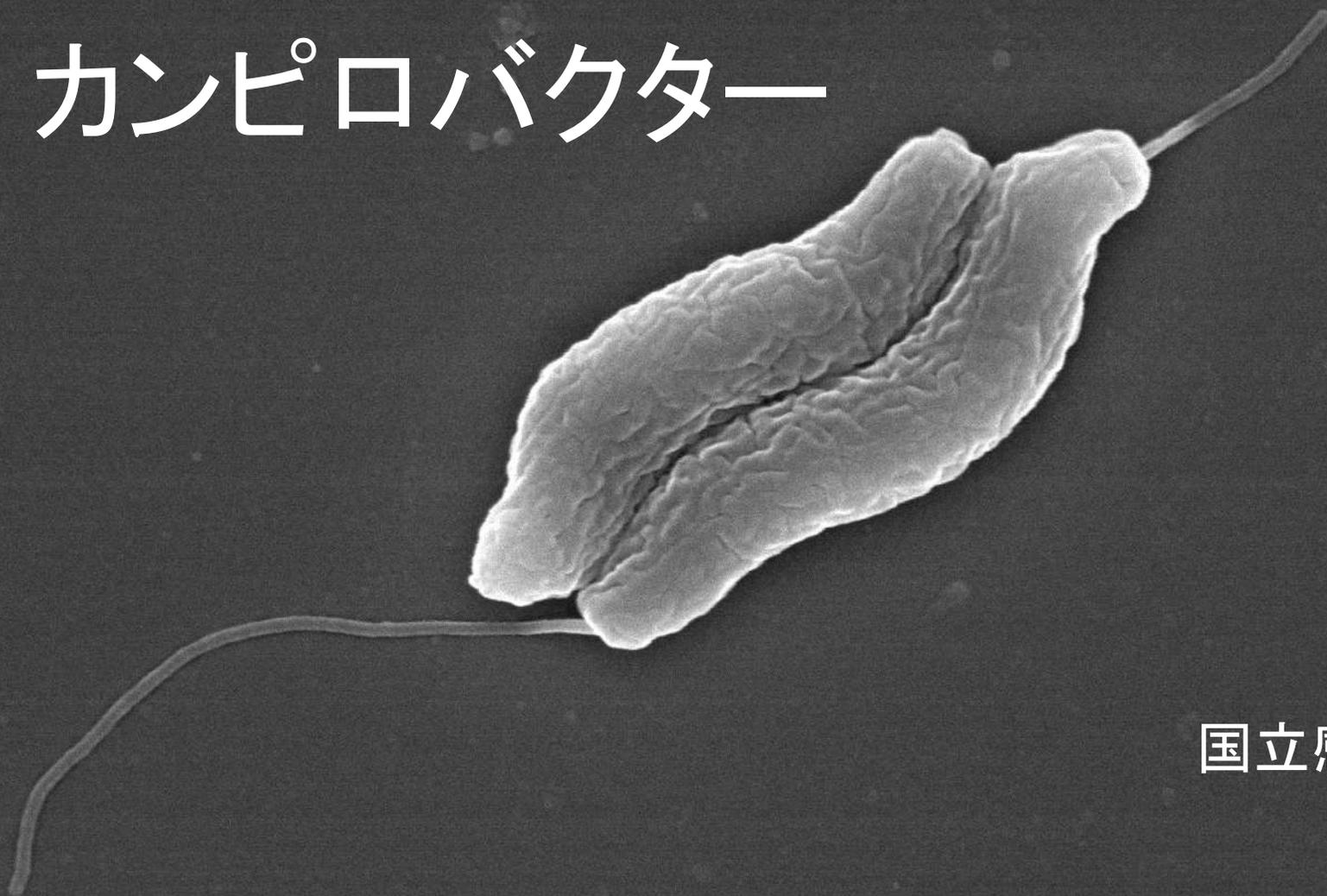
2024/25シーズンの季節性インフルエンザサーベイランスに関する説明と動物由来インフルエンザの近況・検査についての情報共有を行った。

資料は地方衛生研究所と共有済

5. カンピロバクター

令和6年7月10日(水)
衛生微生物技術協議会第44回研究会
リファレンスセンター会議

カンピロバクター



国立感染症研究所
細菌第一部
山本 章治
yshouji@niid.go.jp

本日の内容

- リファレンスセンター報告
山本 章治(国立感染症研究所・細菌第一部)
公開可能な資料のみ感染研ホームページに後日掲載予定
- 事例報告
緩詰 沙耶(石川県保健環境センター・細菌グループ)
- リファレンスセンター内打ち合わせ

厚労科研：新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業研究 わが国の病原体検査の標準化と基盤強化、ならびに、公衆衛生上重要な感染症の 国内検査体制維持強化に資する研究

I. 研究の背景・意義

- (1) 新型コロナウイルス感染症、薬剤耐性菌等の感染症アウトブレイク、ジカ熱・デング熱等の再興感染症など国民生活に脅威となる感染症は継続的に発生しており、平時から病原体の特定やサーベイランスによる感染拡大状況の把握が必須であるが、全国で統一的な公的検査体制は存在しない。
- (2) 全国的な公的検査体制として、地衛研と感染研で運用しているラボネットワークとしてレファレンスセンターが疾病毎に機能している。公衆衛生上求められる各種病原体検査を全国規模で実施できるレファレンスセンターの活用は、国の感染症対策における検査システムとして現実的な手段である。
- (3) 公衆衛生上重要な感染症が新規に発生した場合も世界的な感染症情報を活用し、国立感染症研究所において病原体のゲノム情報等を解析し検査法を確立することで、迅速に新規の検査を自治体で実施できる体制を整備する必要がある。

II. 研究の目的

- (1) 公衆衛生上重要な感染症の検査を全国規模で正確に行うことを可能にすること。
- (2) 感染症法で対応すべき疾患に関して感染研と全国の地衛研が相互に協力して対応し検査体制および精度の水準を維持すること。
- (3) 公衆衛生上重要な感染症が新規に発生した場合も世界的な感染症情報を活用し、国立感染症研究所において病原体のゲノム情報等を解析し検査法を確立することで、迅速に新規の検査を自治体で実施できる体制を整備する必要がある。

令和6年度カンピロバクターリファレンス委員会

ブロック等	担当者	所属	活動内容
世話人	山本 章治	国立感染症研究所 細菌第一部	<ul style="list-style-type: none"> • 簡便で精度が高い型別法の導入 • その他試験法の改善・導入の検討 • 年あたり散发事例由来100株以上のサーベイランス
北海道・東北	今野 貴之	秋田県健康環境センター 保健衛生部	
関東・甲信越	小西 典子	東京都健康安全研究センター 微生物部	
東海・北陸	山田 和弘	愛知県衛生研究所 生物学部	
近畿	坂田 淳子	大阪健康安全基盤研究所 微生物部	
中国・四国	大塚 仁	山口県環境保健センター 保健科学部	
九州・沖縄	伊豆 一郎	熊本県保健環境科学研究所 微生物科学部	
オブザーバー	山崎 栄樹	国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部	

カンピロバクター食中毒(≒腸炎)

感染後2日から7日程度の潜伏期間を経て発症する下痢を主症状とした腸炎

カンピロバクター属細菌のうち

食中毒の原因となる種は. . . .

Campylobacter jejuni subsp. *jejuni*: 90%以上

Campylobacter coli: 数%

食品衛生法:カンピロバクター食中毒
感染症法:感染性胃腸炎(5類感染症)
バイオセーフティレベル:BSL2

腸炎による致死率は極めて低いが (< 0.1%)、**ギラン・バレー症候群(GBS)**、**反応性関節炎**、**炎症性腸疾患**などを併発し、健康に重大な被害を及ぼす場合がある。

その他、敗血症、髄膜炎などの症状

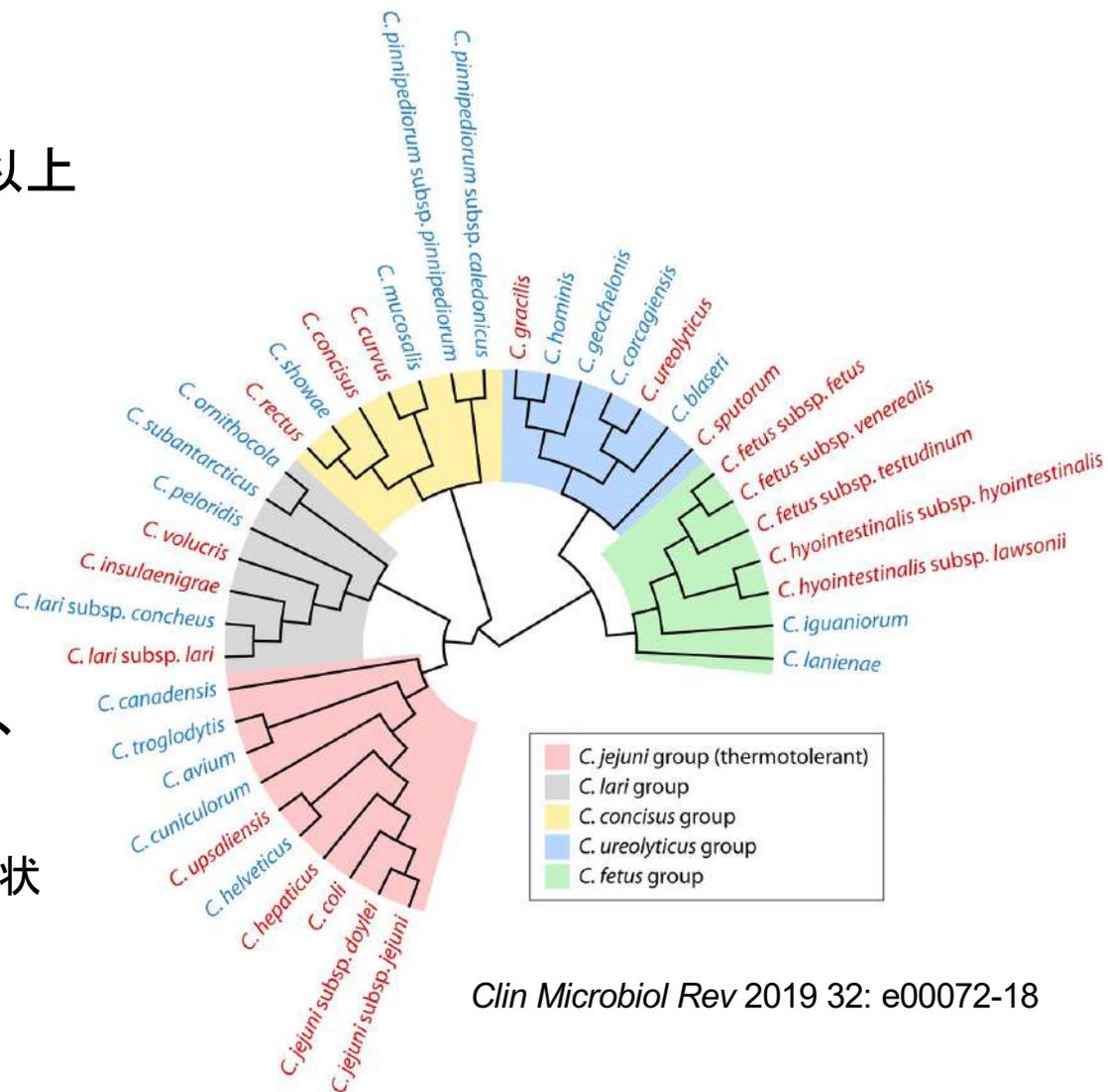
C. fetus subsp. *fetus*

C. lari subsp. *lari*

C. upsaliensis

C. ureolyticus

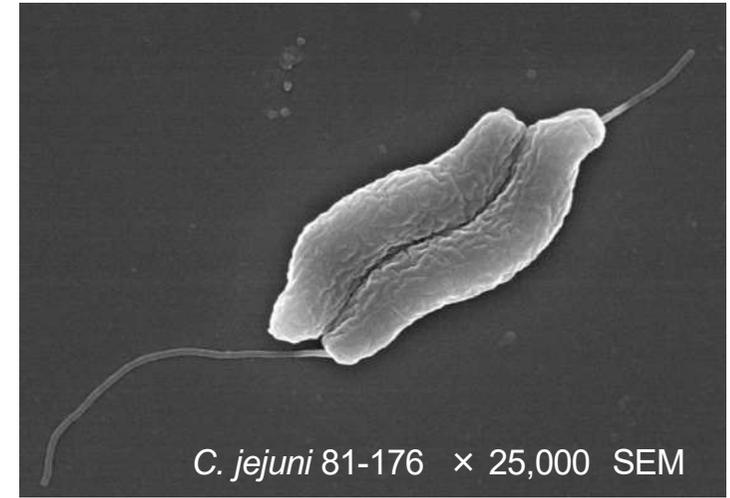
など



Clin Microbiol Rev 2019 32: e00072-18

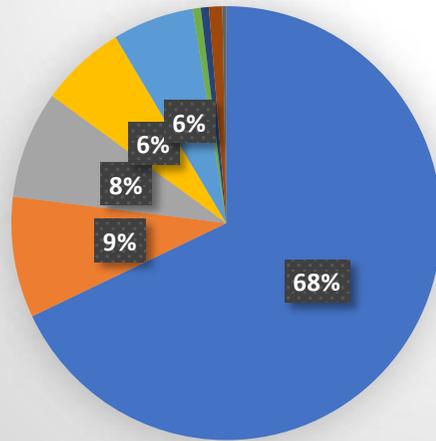
細菌学的特性

- グラム陰性細菌
- 特徴的なS型螺旋状の形態
- 両極にべん毛を保有、高い運動性あり
- 微好気性(3~15% O₂)で大気中では増殖不能
- 好湿性で乾燥に弱い
- 30~46°Cの範囲で増殖可能(一部例外あり)
- オキシダーゼ陽性、カタラーゼ陽性、その他生化学的性状の有無
- アミノ酸代謝系が発達、糖代謝系は未発達(一部例外あり)
- 病原因子としてべん毛、LOS、CPSなどの菌体表層構造やCDT毒素が挙げられる(腸炎の発症に関わる決定的な因子は不明、GBSの発症には特異的なLOS構造が関与)
- 相変異によって理論的に1つの菌個体から26万~5,500億通りの遺伝的に異なるバリエーションをつくるのが可能



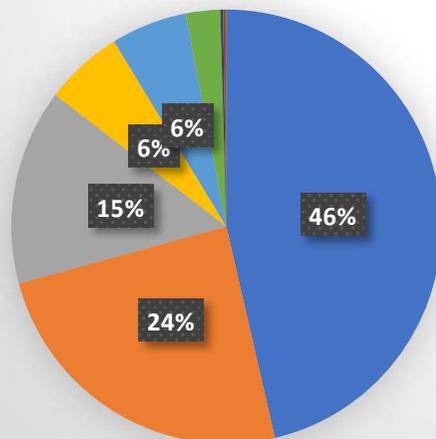
2023年 細菌性食中毒の国内発生状況

事件数 (311)



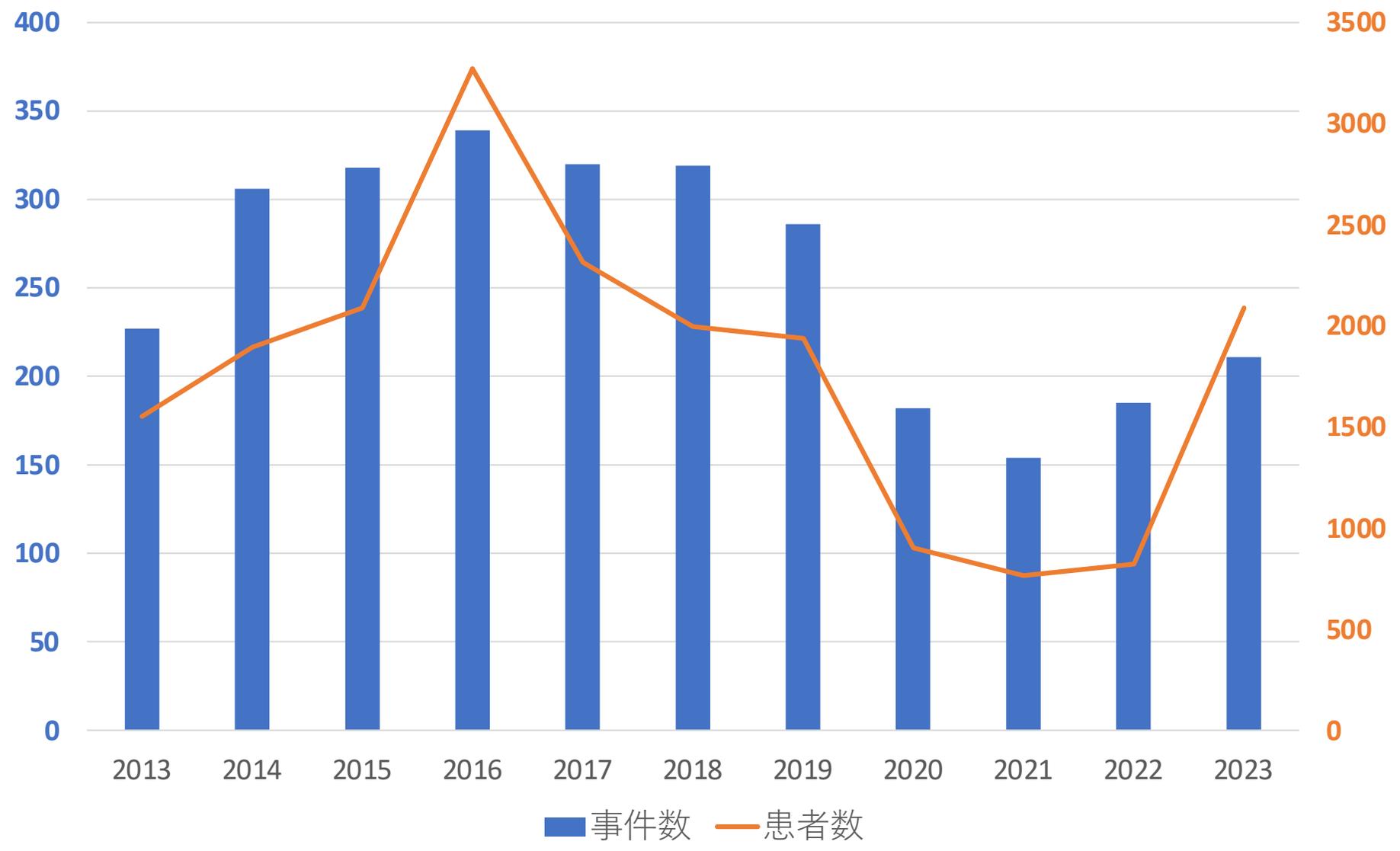
- カンピロバクター・ジェジュニ/コリ
- ウエルシュ菌
- サルモネラ属菌
- ぶどう球菌
- 腸管出血性大腸菌 (VT産生)
- 腸炎ビブリオ
- セレウス菌

患者数 (4,501人)



- カンピロバクター・ジェジュニ/コリ
- ウエルシュ菌
- サルモネラ属菌
- 腸管出血性大腸菌 (VT産生)
- ぶどう球菌
- その他の病原大腸菌
- セレウス菌

カンピロバクター食中毒の国内発生動向



データ出典:厚生労働省食中毒統計資料

カンピロバクター食中毒の特徴

他の細菌性食中毒に比べて事件数あたりの患者数が少ない、もしくは集団事例が少ないが、事件数が多いために患者総数が多くなる

細菌	事件あたりの患者数					
	2018年	2019年	2020年	2021年	2022年	2023年
ウエルシュ菌	72.5	53	56	63.9	66.7	39.2
カンピロバクター・ジェジュニ/コリ	6.3	6.8	4.9	4.9	4.4	9.9
サルモネラ属菌	35.6	22.7	26.1	39.8	31.7	26.2
ブドウ球菌	15.6	17.1	12.4	15.8	15.4	12.9
腸管出血性大腸菌	14.3	8.3	6	4.7	9.8	13.9

データ出典: 厚生労働省食中毒統計資料

Comparing Sporadic and Outbreak Foodborne Illness

Table 1. Number of outbreak cases versus sporadic cases and outbreak fraction, FoodNet data, United States, 2004–2011*

Pathogen	Outbreak cases	Sporadic cases	Outbreak fraction, %
<i>Campylobacter</i>	195	42,744	0.5
<i>Escherichia coli</i> O157	730	3,117	19.0
<i>Listeria</i>	56	1,024	5.2
<i>Salmonella</i>	3,161	50,690	5.9

*Representing 101,717 reports with complete data for all study variables out of 110,157 total reports. FoodNet, Foodborne Diseases Active Surveillance Network.

国内大規模集団事例(2023)

三重県 令和5年1月 某飲食店

喫食者:85名

有症者:41名、19歳・20歳の男女(複数名から*C. jeuni*検出)

原因食品:不明(夕食に提供したコース料理)

高知県 令和5年7月 某保育園

喫食者:65名

有症者:58名、10歳未満~20歳代・40歳代の男女(複数名から*C. jeuni*検出)

原因食品:不明(給食)

石川県 令和5年8月 某飲食店

喫食者:

有症者:892名、10歳未満~20歳代・40歳代の男女(複数名から*C. jeuni*検出)

原因食品:提供された食事(湧水を用いて調理されたもの)

長野県 令和5年10月 某旅館

喫食者:47名

有症者:44名、10歳代~40歳代の男女(複数名から*C. jeuni*検出)

原因食品:提供された食事

海外の状況

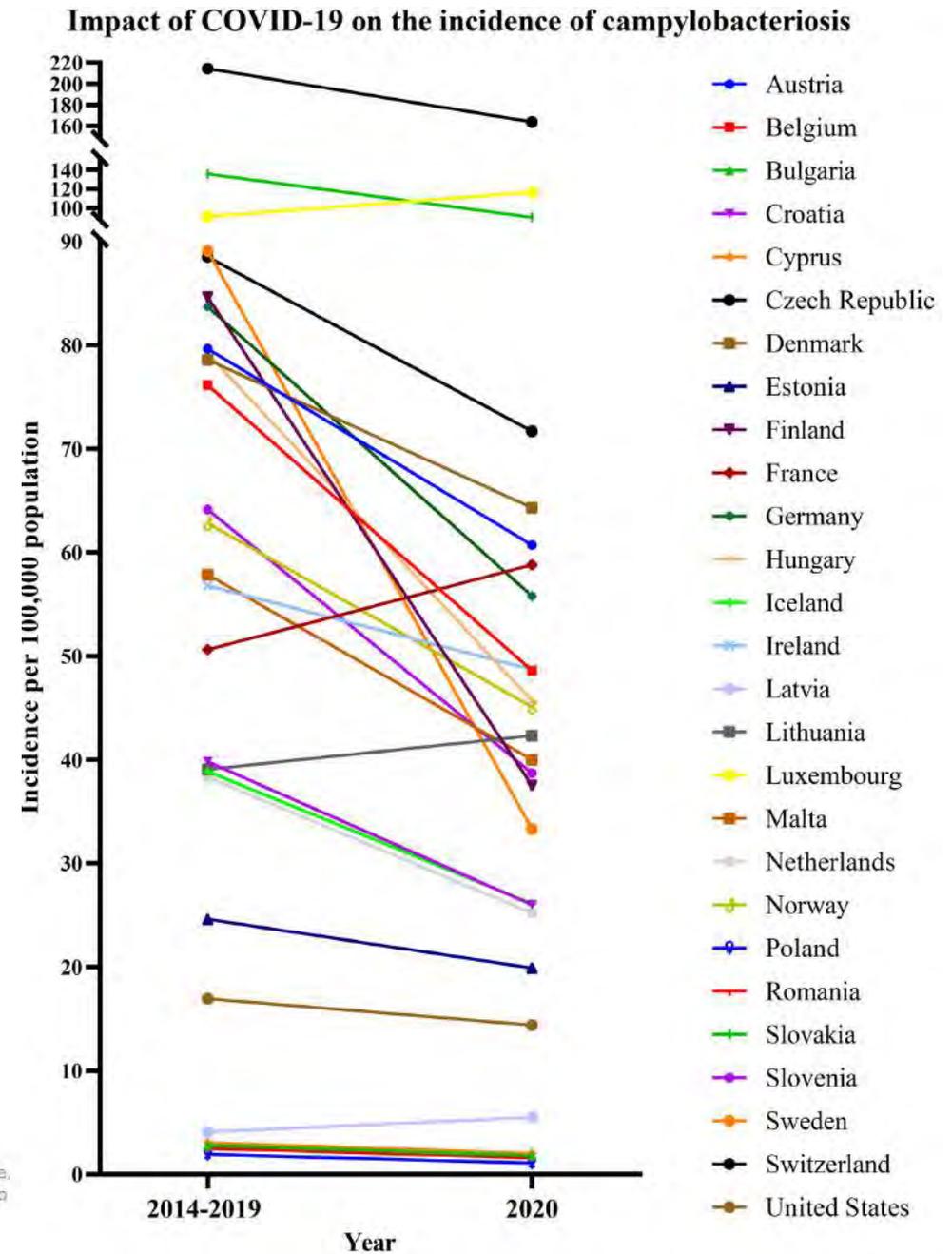
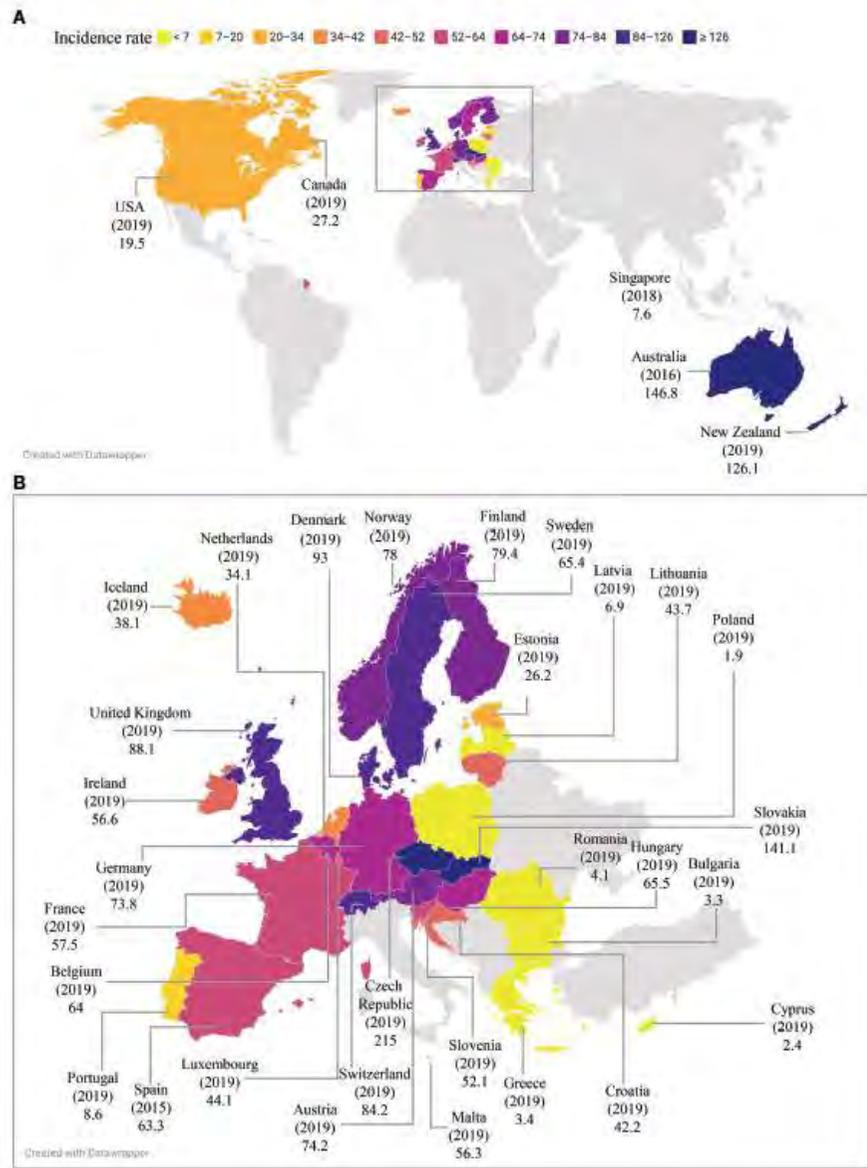


FIGURE 1
Reported global incidence of campylobacteriosis. Reported incidence rates of campylobacteriosis worldwide (A) and in Europe (B) are presented as per 100,000 population. Data presented in the figure were mainly from 2019. In countries where the 2019 data were not available, data from a previously available year were used. Countries with no reported incidence of campylobacteriosis available were in grey colour. Map was created with Datawrapper.

カンピロバクター由来ギラン・バレー症候群 (GBS) の集団発生 (ペルー)

2019年

Large Outbreak of Guillain-Barré Syndrome, Peru, 2019

Emerging Infect Dis 2020 11: 2778-2780

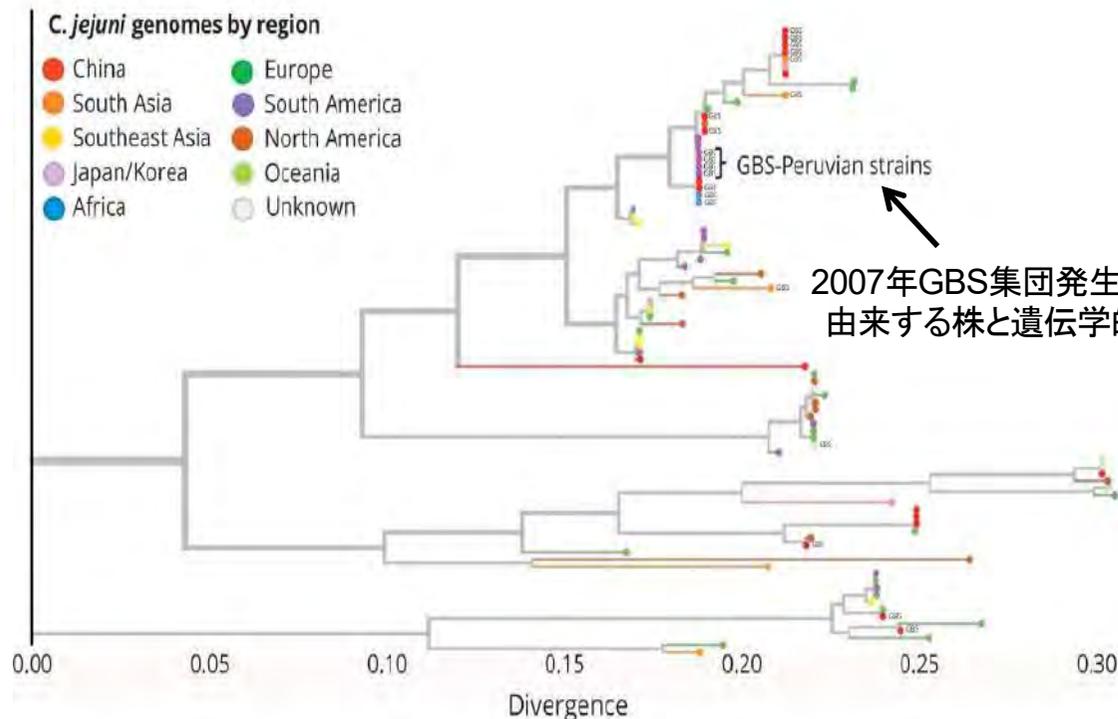
2017年 0.19人/人口100,000人

2018年 0.81人/人口100,000人

2019年 3.44人/人口100,000人 (4月から7月がピーク)

43検体のうち、28検体 (65%) が *C. jejuni* の先行感染の疑い

全て **ST2993:HS41** であった



Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm 2021 8:e952

Whole genome MLST

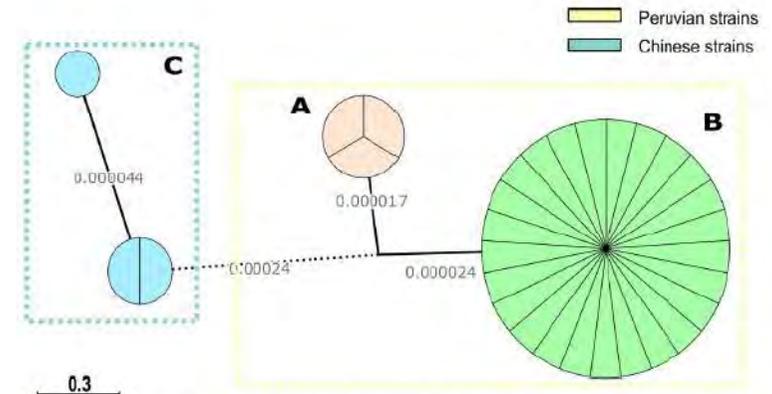


FIG 3 Whole-genome MST of *C. jejuni* ST-2993 used in this study. The numbers over branches infer relatedness by stating the substitution per sequence site. Branches spanning <math><0.00001</math> substitutions per site were collapsed for clarity. A represents Peruvian Amazon strains while B represents Peruvian GBS strains. C represents Chinese GBS strains.

Microbiol Spectr 2022 10:01187-22

2023年



Briefing Note:
Increase in cases
Guillain-Barré Syndrome
Peru

10 July 2023

2023年6月10日から7月15日の間にGBSの疑い例が130例報告された。このうち44例が確定診断済みであり、予測を上回る症例数が確認された。22検体のうち14検体 (63%) が *C. jejuni* 陽性。ST2993の関与が示唆された。

藥劑耐性

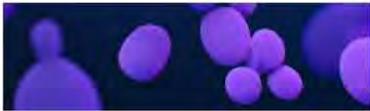
緊急

Urgent Threats

These germs are public health threats that require urgent and aggressive action:



CARBAPENEM-RESISTANT
ACINETOBACTER



CANDIDA AURIS



CLOSTRIDIOIDES DIFFICILE



CARBAPENEM-RESISTANT
ENTEROBACTERIACEAE



DRUG-RESISTANT
NEISSERIA GONORRHOEAE

懸念

Concerning Threats

These germs are public health threats that require careful monitoring and prevention action:



ERYTHROMYCIN-RESISTANT
GROUP A STREPTOCOCCUS



CLINDAMYCIN-RESISTANT
GROUP B STREPTOCOCCUS

深刻

Serious Threats

These germs are public health threats that require prompt and sustained action:



DRUG-RESISTANT
CAMPYLOBACTER



DRUG-RESISTANT
CANDIDA



ESBL-PRODUCING
ENTEROBACTERIACEAE



VANCOMYCIN-RESISTANT
ENTEROCOCCI



MULTIDRUG-RESISTANT
PSEUDOMONAS AERUGINOSA



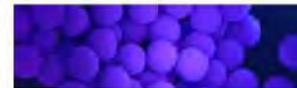
DRUG-RESISTANT
NONTYPHOIDAL SALMONELLA



DRUG-RESISTANT
SALMONELLA SEROTYPE TYPHI



DRUG-RESISTANT
SHIGELLA



METHICILLIN-RESISTANT
STAPHYLOCOCCUS AUREUS



DRUG-RESISTANT
STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE



DRUG-RESISTANT
TUBERCULOSIS



【抗菌薬による治療】

一般的には補液などの対症療法のみで自然軽快することがほとんどである。しかし、重症例や免疫不全者の場合などには抗菌薬の投与が適応となる。カンピロバクターは世界的にキノロン系薬の耐性化がすすんでいる²⁶⁾。このため、現在はマクロライド系薬が第一選択となっているが、近年マクロライド耐性の菌も出現しており問題となっている²⁷⁾。免疫不全者などにおけるマクロライド抗菌薬による早期の治療は、菌の排出期間短縮と症状の軽減が報告されている^{28)~30)}(BII)。

推奨される治療薬

- CAM 経口 1回 200mg・1日2回・3~5日間
- AZM 経口 1回 500mg・1日1回・3~5日間
- EM 経口 1回 200mg・1日4回・3~5日間

日本化学療法学会雑誌 2016 vol. 64 no. 1

	PERCENTAGE OF CAMPYLOBACTER*	ESTIMATED NUMBER OF INFECTIONS PER YEAR	ESTIMATED INFECTIONS PER 100,000 U.S. POPULATION
DECREASED SUSCEPTIBILITY TO CIPROFLOXACIN	28%	429,600	130
DECREASED SUSCEPTIBILITY TO AZITHROMYCIN	4%	55,600	20
DECREASED SUSCEPTIBILITY TO CIPROFLOXACIN OR AZITHROMYCIN	29%	448,400	140
DECREASED SUSCEPTIBILITY TO CIPROFLOXACIN AND AZITHROMYCIN	2%	36,800	10

Antibiotic susceptibility helps describe how sensitive germs are to particular antibiotics. An antibiotic can stop the growth of or kill a susceptible germ.

*Average (2015-2017), includes *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*.

CDC. Antibiotic Resistance Threats in the United States, 2019. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, CDC; 2019

令和5年5月31日

都道府県知事 殿

農林水産省消費・安全局長

薬剤耐性 (AMR) 対策アクションプラン (2023-2027) の策定に基づく
薬剤耐性対策の推進について

抗菌剤の慎重な使用

- ▶ 適切な診断に基づいて抗菌剤の使用を真に必要な場合に限定。使用する必要がある場合は、有効な抗菌剤を適切に選ぶとともに、必要最小限の使用量とする。→ 薬剤耐性菌の出現を最小限に抑える。
 - ▶ 法令等に基づく適正使用^(※)よりも、更に注意して抗菌剤を使用(慎重使用)。
- (※ 適正使用：獣医師の指示に基づく販売、獣医師自らの診察に基づく投与や指示書の発行等を定めた法令及び用法・用量を遵守し、使用上の注意にしたがって使用すること。)



農水省ホームページ

<https://www.maff.go.jp/j/syoutan/tikusui/yakuzi/torikumi.html#tekisei>

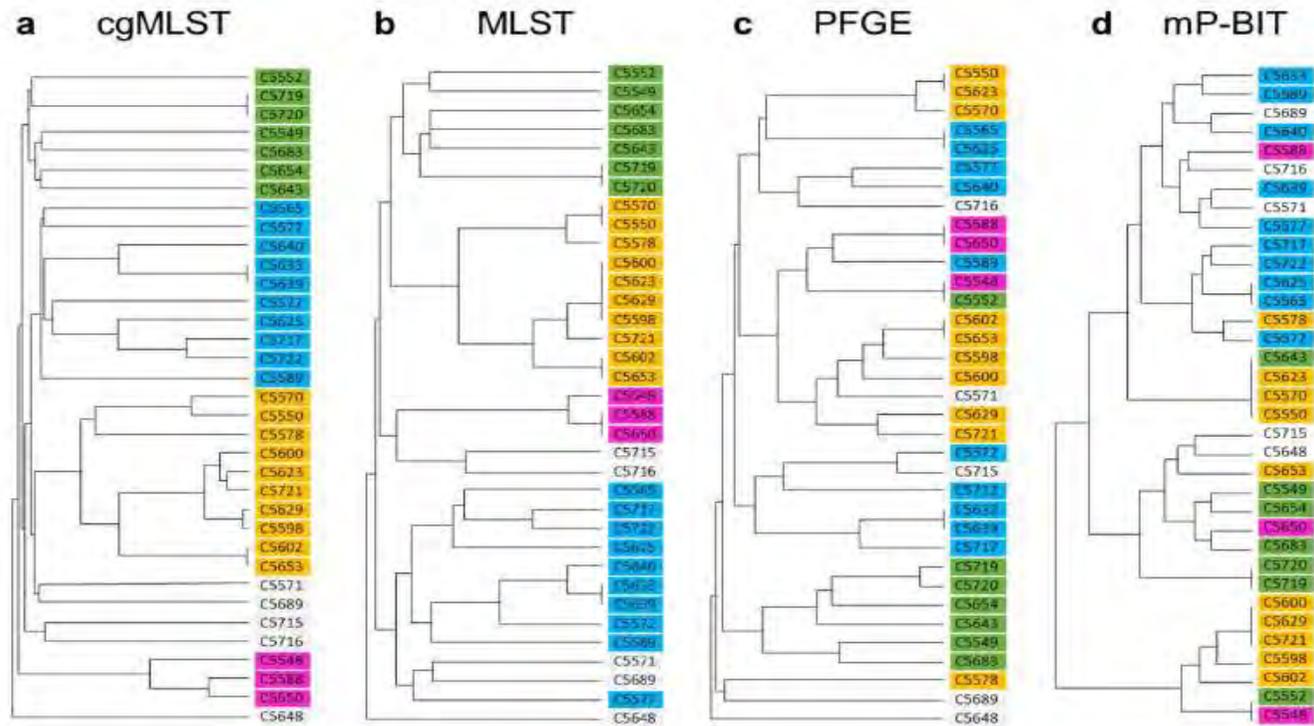
2023年度のリファレンス活動

2022年度(124株)	2023年度(114株)
・遺伝子型別	・遺伝子型別
Penner遺伝子型	Penner遺伝子型
mP-BIT	mP-BIT
	MLST
・薬剤感受性	・薬剤感受性
エリスロマイシン	エリスロマイシン
シプロフロキサシン	クラリスロマイシン
テトラサイクリン	アジスロマイシン
アンピシリン	シプロフロキサシン
	テトラサイクリン
	アンピシリン

→ データの汎用化、型別能の評価、GBSリスクの把握

→ マクロライド耐性の把握

カンピロバクターにおける遺伝子型別法の比較(性能別)



Folia Microbiologica
<https://doi.org/10.1007/s12223-023-01093-5>

Penner型

標的遺伝子	1,142遺伝子 (保存性高)	7遺伝子 (ハウスキーピング)	-	18遺伝子 (病原性・薬剤耐性等)	CPS生合成遺伝子
遺伝子型数	81,510型(現時点)	14,093型(現時点)	-	262,144型(理論値)	47型
多様性	高	中	中	中	低
Simpsonの多様度指数 (リファレンス委員会)	-	0.9510	-	0.9315	0.899
系統識別能	高	中	低	低	低
データ汎用性	高	高	低	低	低
簡便性	低	中	低	高	高
コスト	高	中	低	低	低

カンピロバクターにおける遺伝子型別法の比較(用途別)

感染源？



患者



通常の食中毒対応

事例間の調査・研究

Penner型

mP-BIT

MLST

ゲノム解析

Penner型

mP-BIT

MLST

ゲノム解析

比較

OK

原因株

他事例株

OK

比較

同一事例
患者株

- 時間的・地理的な背景が異なるが、発生源が同じ可能性が高い株の解析
- 特に、深刻な健康被害が懸念される事例の発生源の解明

Penner遺伝子型の成績

リファレンス委員会2022年

遺伝子型	株数	頻度 (%)
gB:HS2	28	22.6
gD:HS4	21	16.9
gG:HS8/17	15	12.1
gO:HS19	9	7.3
gC:HS3	6	4.8
gE:HS5	6	4.8
gI:HS10	6	4.8
gY:HS37	6	4.8
gR:HS23/36/53	5	4
gA:HS1	4	3.2
gU:HS31	3	2.4
gZ6:HS55	3	2.4
gF:HS6/7	2	1.6
gK:HS12	1	0.8
gS:HS27	1	0.8
gZ7:HS57	1	0.8
型別不能	7	5.6
計	124	100.0

リファレンス委員会2023年

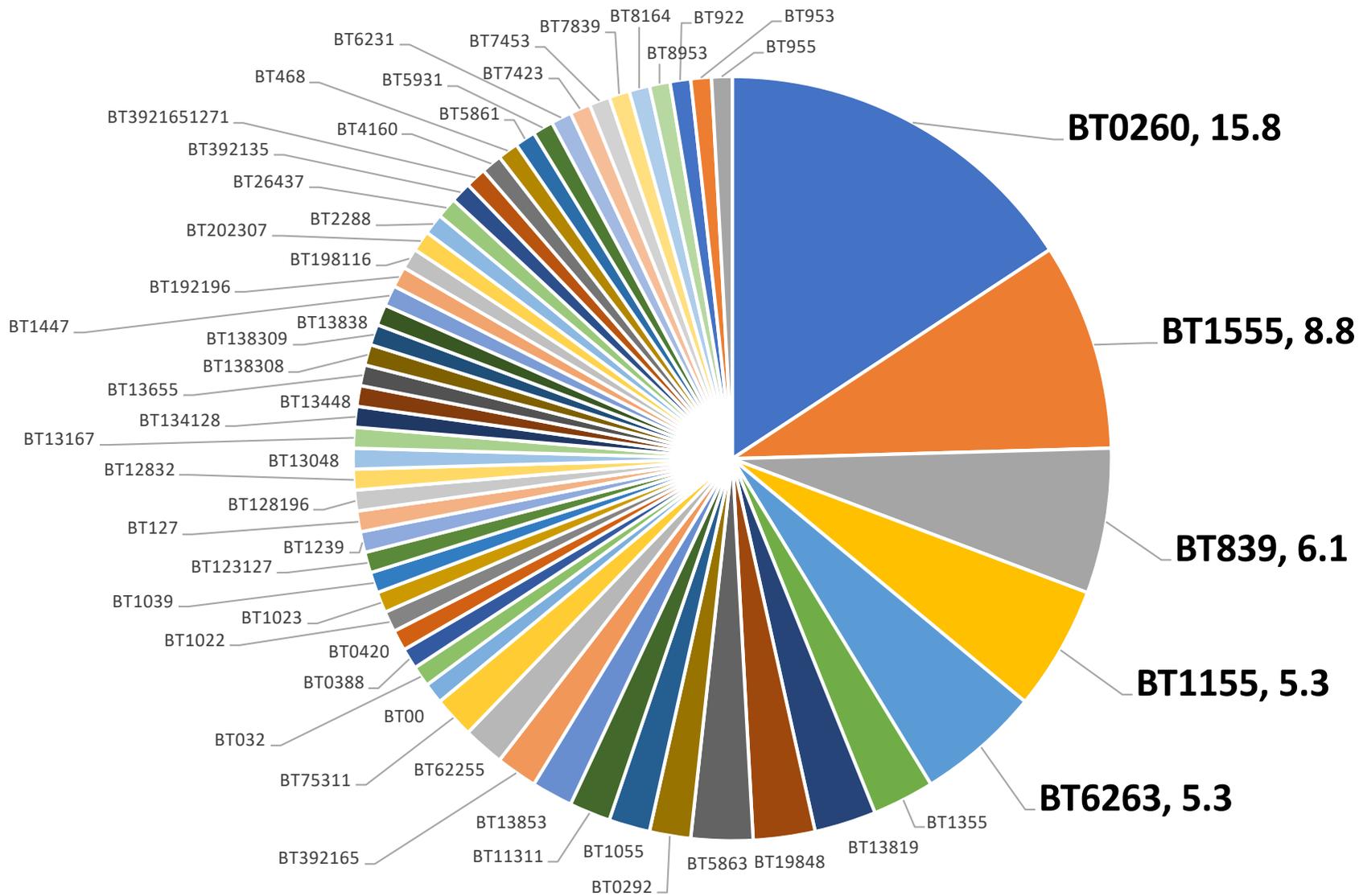
遺伝子型	株数	頻度 (%)
gO:HS19	16	14.0
gB:HS2	14	12.3
gD:HS4	13	11.4
gI:HS10	11	9.6
gC:HS3	9	7.9
gE:HS5	7	6.1
gR:HS23/36/53	6	5.3
gG:HS8/17	6	5.3
gY:HS37	5	4.4
gA:HS1	4	3.5
gJ:HS11	3	2.6
gU:HS31	2	1.8
gF:HS6/7	2	1.8
gP:HS21	1	0.9
gL:HS15	1	0.9
gK:HS12	1	0.9
型別不能	13	11.4
計	114	100.0

7協力機関2019-2023年

遺伝子型	株数	頻度 (%)
gB:HS2	66	24.1
gD:HS4	36	13.1
gO:HS19	26	9.5
gG:HS8/17	22	8.0
gE:HS5	18	6.6
gY:HS37	14	5.1
gD:HS4B	13	4.7
gR:HS53	11	4.0
gA:HS1	10	3.6
gC:HS3	9	3.3
gI:HS10	9	3.3
gZ7:HS57	5	1.8
gF:HS6/7	4	1.5
gS:HS27	4	1.5
gU:HS31	4	1.5
gK:HS12	3	1.1
gN:HS18	2	0.7
gR:HS23/36	2	0.7
gZ5:HS52	2	0.7
gP:HS21	1	0.4
gV:HS32	1	0.4
gZ6:HS55	1	0.4
型別不能	24	8.8
計	274	100.0

- 2023年度はgHS19が最も多かった
- 外部機関でも高い型別能(91.2%)が示された

mP-BITの成績(%)



Penner遺伝子型ごとのmP-BITサブタイピング(上位5型)

2022年

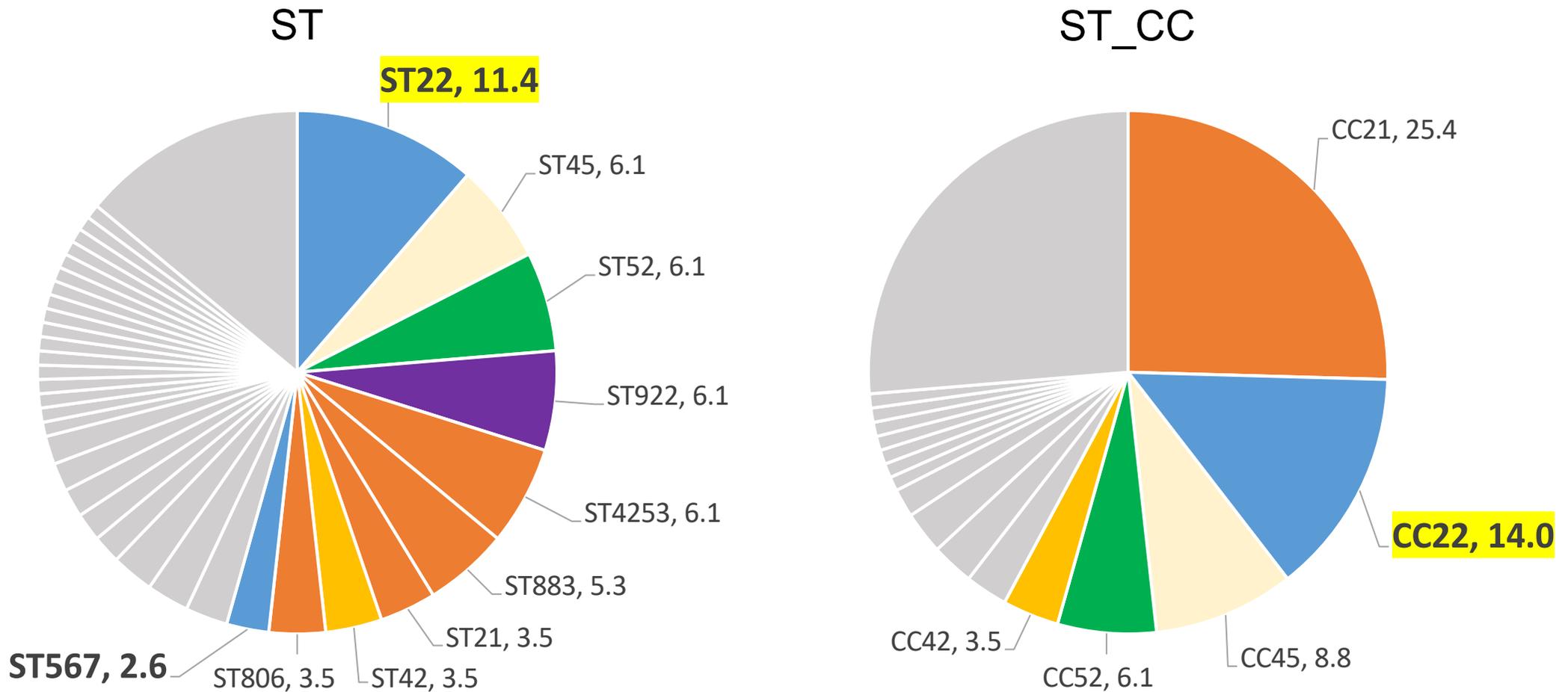
PN	BT	頻度 (%)	ブロック数	Shannon equitability index
gHS2 28株	1555	32.1	2	0.822
	79311	25.0	2	
	62255	10.7	1	
	138181	7.1	1	
	13852	3.6	1	
	59127	3.6	1	
	62127	3.6	1	
	71311	3.6	1	
	7155	3.6	1	
	75311	3.6	1	
	839	3.6	1	
gHS4 21株	4288	28.6	3	0.876
	1155	23.8	4	
	1053	9.5	1	
	13923	9.5	1	
	1120	4.8	1	
	1239	4.8	1	
	127	4.8	1	
	1555	4.8	1	
	18661	4.8	1	
	432	4.8	1	
gHS8/17 15株	202307	86.7	4	0.441
	7423	6.7	1	
	1155	6.7	1	
gHS19 9株	0260	44.4	4	0.912
	0388	22.2	2	
	644	22.2	1	
	8260	11.1	1	
gHS3 6株	1053	33.3	1	0.959
	1155	33.3	1	
	1017	16.7	1	
	7555	16.7	1	

2023年

PN	BT	頻度 (%)	ブロック数	Shannon equitability index			
gHS19 16株	0260	100	5	-			
	gHS2 14株	1555	50.0		4		
		75311	14.3		1		
		62255	14.3		2		
		123127	7.1		1		
		5861	7.1		1		
		138308	7.1		1		
		0.819					
		gHS4 13株	1155		15.4	2	0.988
			032		7.7	1	
1039	7.7		1				
1239	7.7		1				
127	7.7		1				
13167	7.7		1				
138309	7.7		1				
2288	7.7		1				
622551271	7.7		1				
7839	7.7		1				
8164	7.7	1					
gHS10 10株	6263	54.5	2	0.808			
	1555	27.3	1				
	202307	9.1	1				
	7423	9.1	1				
gHS3 9株	1155	33.3	2	0.91			
	1355	33.3	1				
	13853	11.1	1				
	8953	11.1	1				
	953	11.1	1				

- Penner型とmP-BITの併用で識別能が上がる可能性あり

MLSTの成績(%)

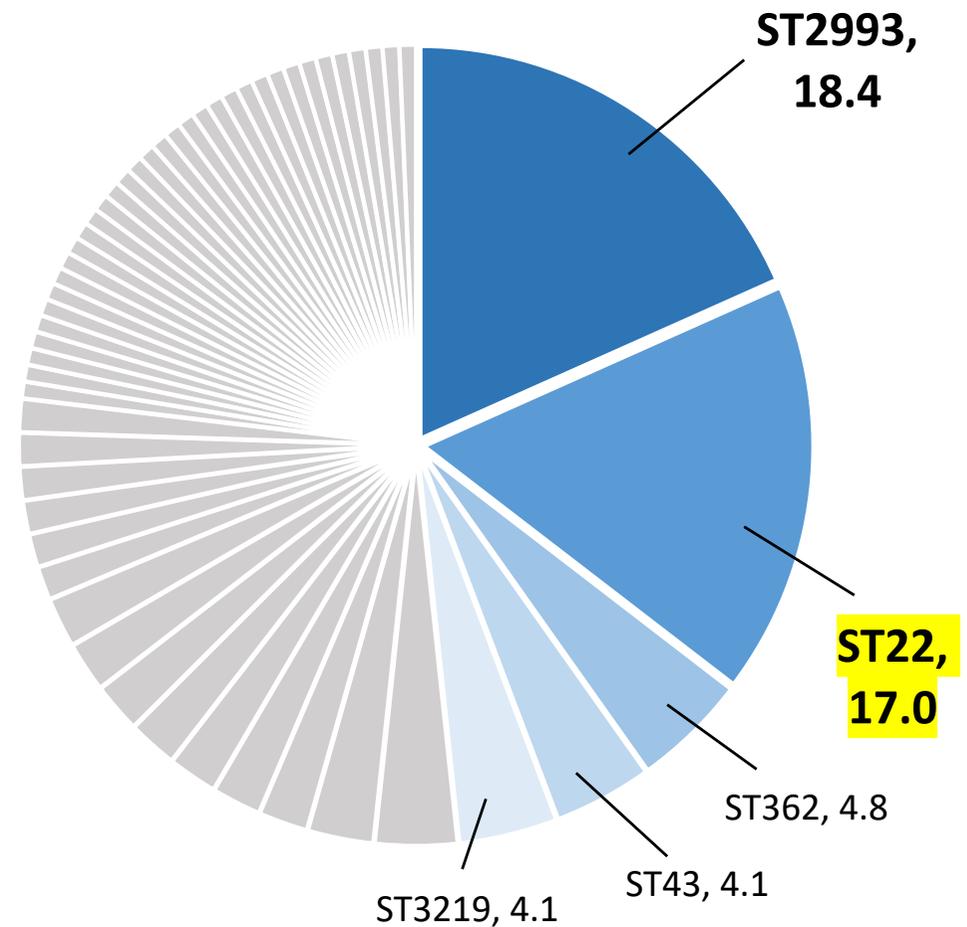
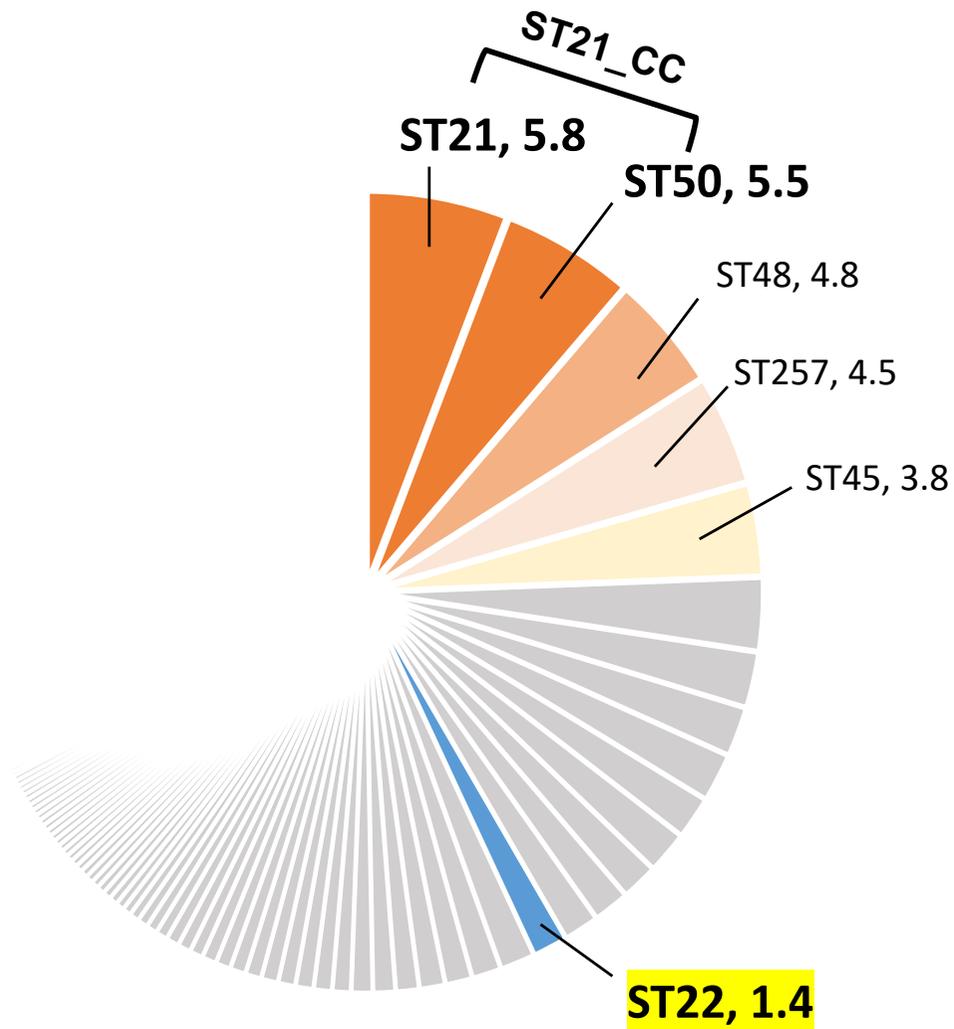


- ST22が最も多かった
- 日本では近年ST22が最も多く分離されるケースあり(*J Vet Med Sci* 2023 85:463-470; 谷ら、第16回カンピロバクター研究会総会)

PubMLST登録済み菌株のSTの比率(%)

腸炎由来: 25,638株

GBS由来: 147株



薬剤感受性試験 (CLSIディスク拡散法) の成績

EM	CAM	AZM	TC	CPFX	APBC	株数	頻度 (%)	分離 ブロック数
S	S	S	R	R	R	6	5.3	4
S	S	S	R	R	I	3	2.6	2
S	S	S	R	R	S	18	15.8	5
S	S	S	R	S	R	2	1.8	1
S	S	S	S	R	R	7	6.1	4
S	S	S	R	S	S	2	1.8	1
S	S	S	S	R	I	2	1.8	1
S	S	S	S	R	S	29	25.4	6
S	S	S	S	S	R	14	12.3	6
S	S	S	S	S	I	2	1.8	2
S	S	S	S	S	S	28	24.6	5
未実施	未実施	未実施	未実施	未実施	未実施	1	0.9	1
計						114	100	

- マクロライド耐性株は検出されなかった
- CPFX、TC、APBCに対してはそれぞれ57%、27.2%、25.4%が耐性であった
- CPFX、TC、APBCの全てに耐性を示す株が5.3% (6株) 検出された

ST	PN	BT	分離ブロック
45	型別不能	134128	A
50	gHS1	6231	D
922	型別不能	1155	D
922	gHS3	1155	C
982	gHS2	62255	B
982	型別不能	1447	C

2024年度のリファレンス活動計画

2023年度	2024年度	
・遺伝子型別	・遺伝子型別	
Penner遺伝子型	Penner遺伝子型	
mP-BIT	mP-BIT	
MLST	MLST	
	LOS遺伝子型(クラス)	→ GBSリスクの把握
	SNP(一塩基多型性)解析の練習	→ ゲノム解析法の理解
・薬剤感受性	・薬剤感受性	
エリスロマイシン	エリスロマイシン	
クラリスロマイシン	クラリスロマイシン	
アジスロマイシン	アジスロマイシン	
シプロフロキサシン	シプロフロキサシン	
テトラサイクリン	テトラサイクリン	
アンピシリン	アンピシリン	
	・病原体検出マニュアル作成	→ ここ数年の活動内容のまとめ

GBSに関連した菌側の因子

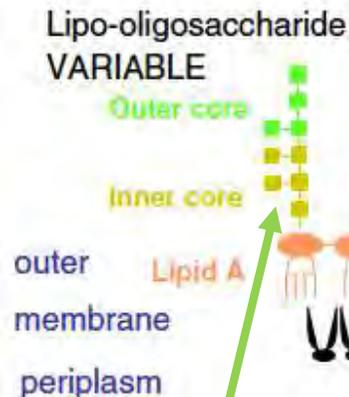
Penner血清型(47種類)

ガングリオシド様構造(?種類)

- GM1様
- GD1a様
- GQ1b様
-

自己抗体産生
GBS発症

LOS



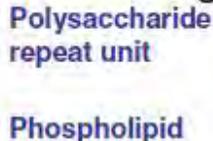
O-linked glycosylated flagellum
VARIABLE

CPS

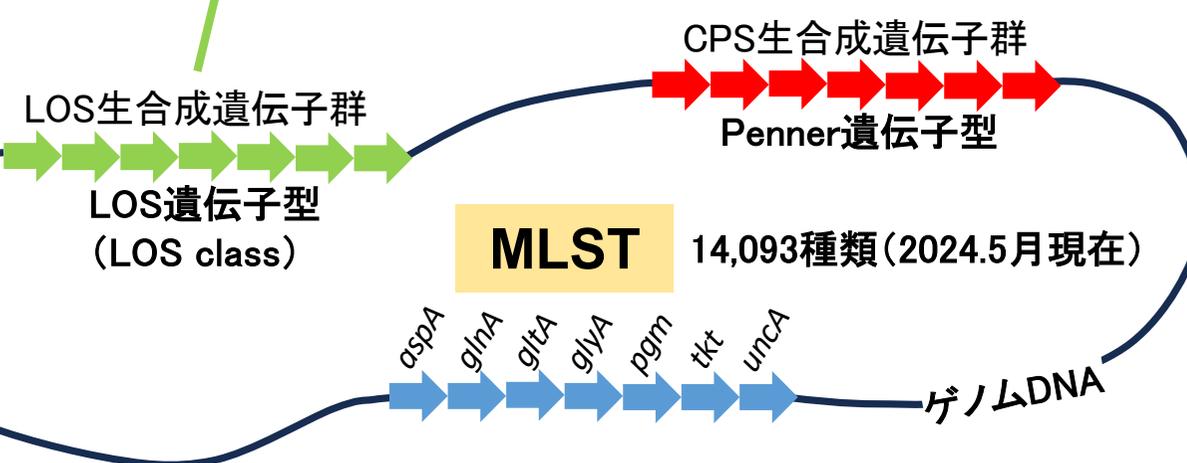
Capsular polysaccharide
VARIABLE

- HS1
- HS2
- HS3
-

N-linked glycoproteins
CONSERVED



FEMS Microbiol Rev 2005 29: 377-390



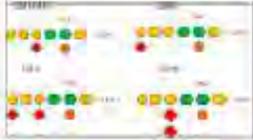
GBS由来株の多くはLOS、CPS、MLSTの特定の組み合わせ型をもつ

代表的な例) GM1/GD1a (LOS class A) : HS19 : ST22

GM1/GD1a (LOS class A) : HS41 : ST2993

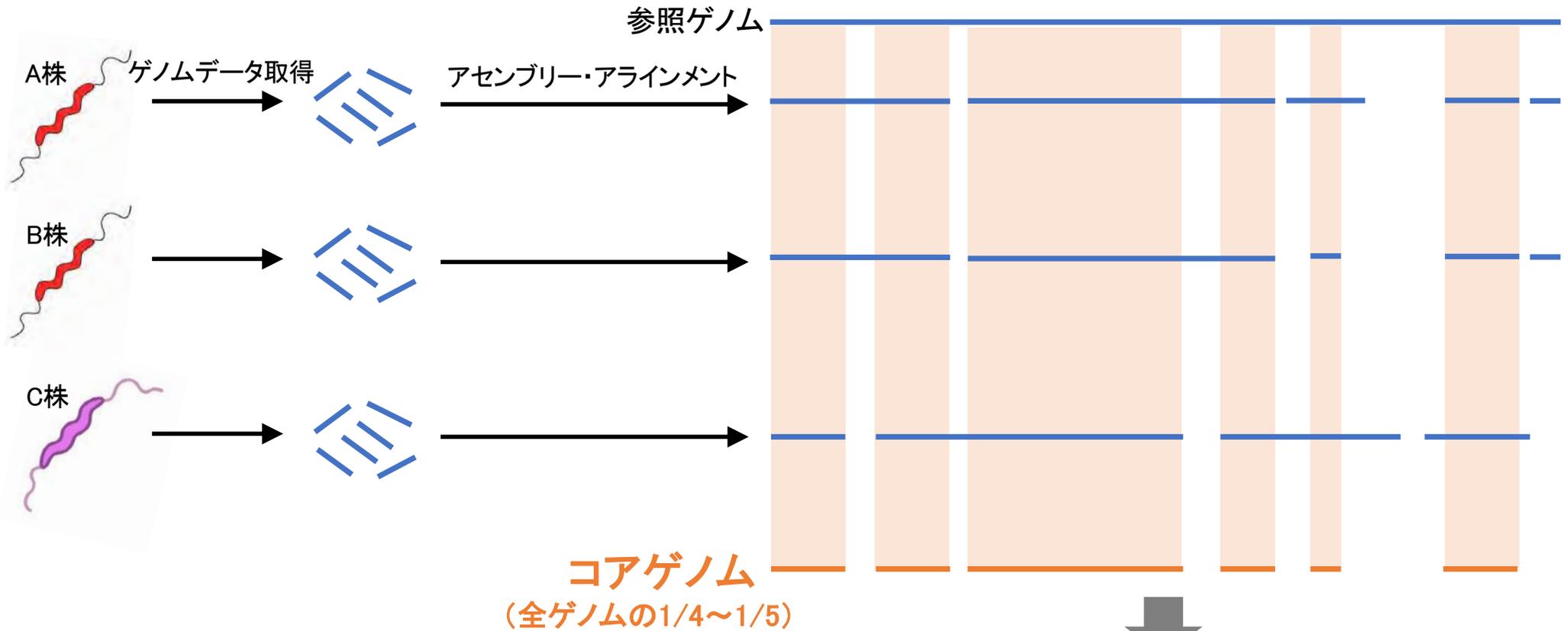
GBSリスクが高い
クラスのみ検出

TABLE 1 | Variable lipooligosaccharide (LOS) structures synthesized by different *C. jejuni* LOS locus types.

LOS locus class (reference strain and accession no.)	LOS structural epitopes	Mimicry (reference)
A (RM1048/ATCC43432 AF215659)		Human ganglioside glycosphingolipid (Nachamkin et al., 2002; Godschalk et al., 2004; Mortensen et al., 2009)
B (81-176 CP000538.1)		Human ganglioside glycosphingolipid (Godschalk et al., 2004; Mortensen et al., 2009)
C (11168 AL111168.1)		Human ganglioside glycosphingolipid (Linton et al., 2000)
D (RM3418 EU404109)	Human ganglioside-like LOS structures other than GM1, GD1, and GQ1b (unknown)	Unknown (Godschalk et al., 2004)
E (81116 CP000814)	Human ganglioside-like LOS structures other than GM1, GD1, and GQ1b (unknown)	Unknown (Godschalk et al., 2004)
F (RM1221 CP000025)		P1 blood group glycosphingolipid Partial P1 blood group glycosphingolipid Partial human ganglioside glycosphingolipid (Houliston et al., 2011)
M (RM1503 EF140720)		Lewis type-1 glycosphingolipid (Houliston et al., 2011)
P (4031 HG428754.1)	Non-sialylated LOS with N-acetyl quinovosamine	No mimics (Poly et al., 2006)
R (GC149 AY962325)		Human ganglioside glycosphingolipid Partial P1 blood group glycosphingolipid Partial human ganglioside glycosphingolipid (Houliston et al., 2011)

Experimentally characterized LOS structures to date. Hypothetical structures are not included here. Glycans in LOS structures were drawn according to the Symbol Nomenclature For Glycans (SNFG).

ゲノムSNPを用いた系統解析



- GUI (Graphical User Interface) ベースのソフトのセッティング
- 同一ST株のデータ (集団事例株とそれ以外の株が混在) を用いて練習

コアゲノムにおける位置	参照ゲノム	A株	B株	C株
10	A	A	A	C
59	C	C	C	G
73	G	C	C	A
153	G	G	G	G
・	・	・	・	・
・	・	・	・	・

SNPを基にした系統解析

謝辞

2023年度 厚生労働行政推進調査事業費

「わが国の病原体検査の標準化と基盤強化、ならびに、公衆衛生上重要な感染症の国内検査体制維持強化に資する研究」

代表者・宮崎 義継、分担者・山本 章治(2023年度～2024年度)

2023年度カンピロバクターリファレンス委員会

赤瀬 悟(東京都健康安全研究センター)

伊豆 一郎(熊本県保健環境科学研究所)

大塚 仁(山口県環境保健センター)

今野 貴之(秋田県健康環境センター)

坂田 淳子(大阪健康安全基盤研究所)

山田 和弘(愛知県衛生研究所)

協力機関

石川県保健環境センター

岩手県環境保健研究センター

愛媛県立衛生環境研究所

岐阜県保健環境研究所

京都市衛生環境研究所

埼玉県衛生研究所

静岡市環境保健研究所



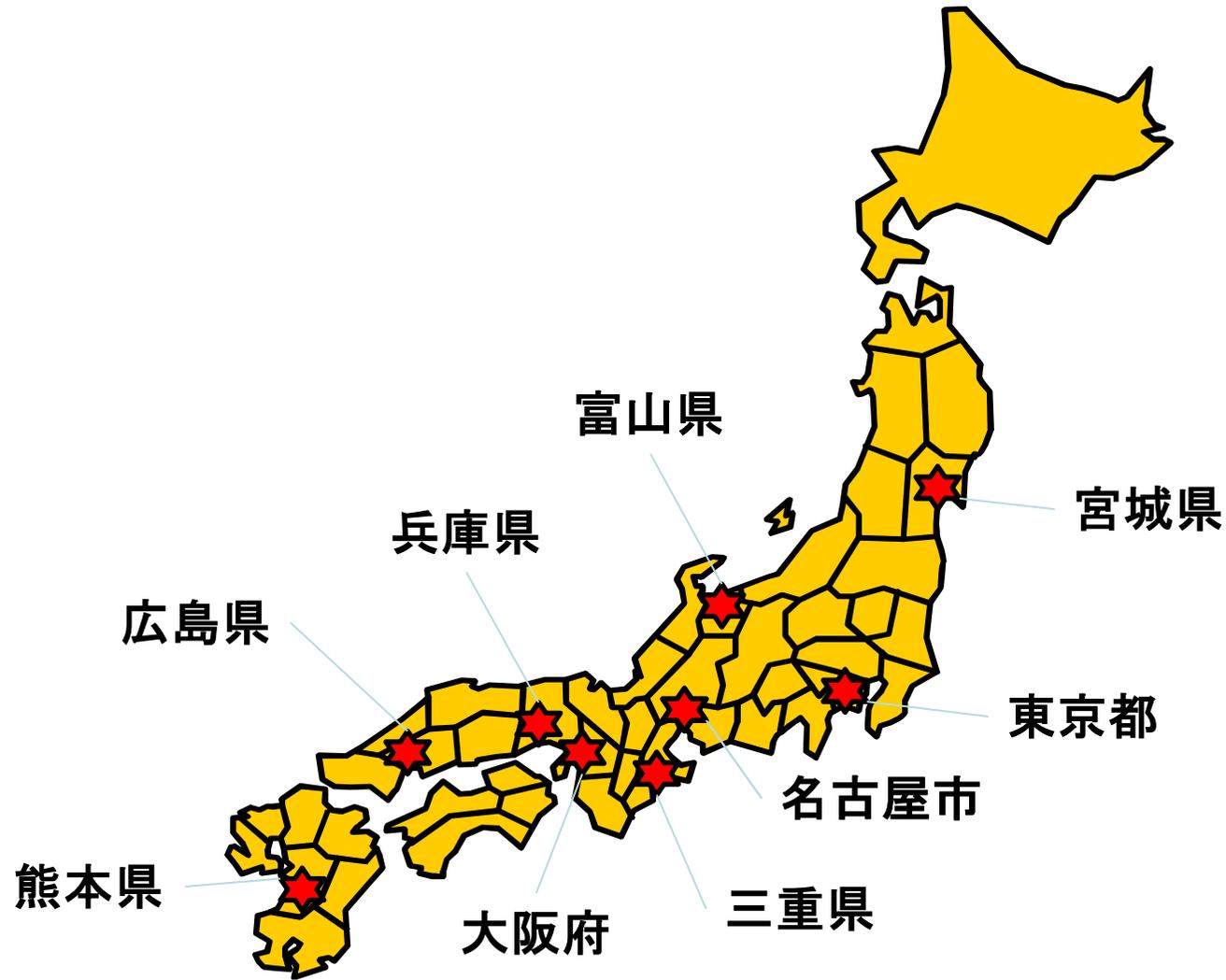
7. アルボウイルス

アルボウイルスレファレンスセンター等 関連会議

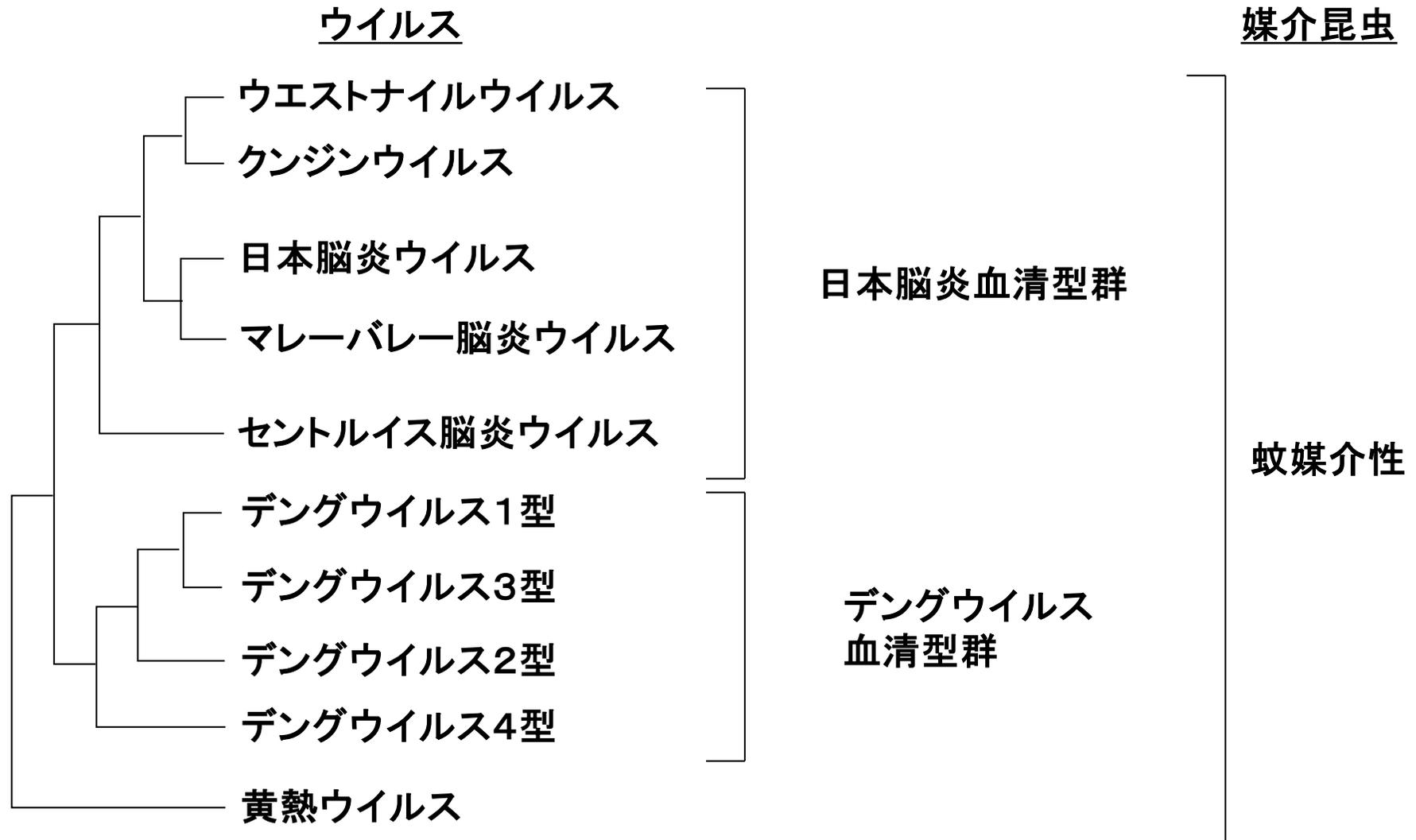
2024年7月10日(金)

国立感染症研究所ウイルス第1部第2室

アルボウイルス感染症レファレンスセンター



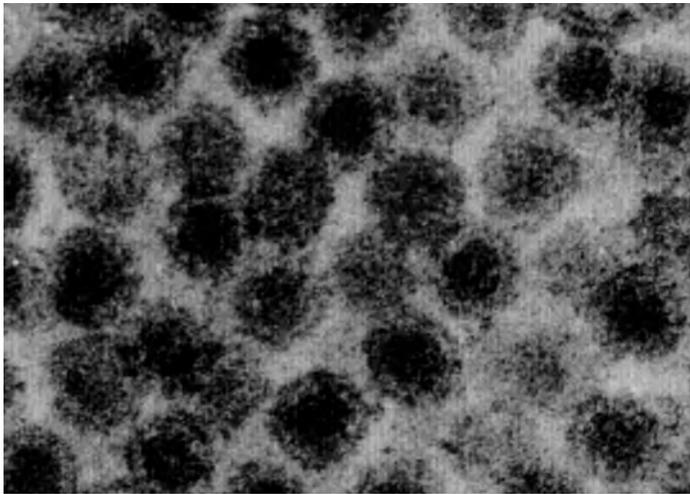
蚊媒介性フラビウイルス



(Fields Virology より改変)

デングウイルス

デングウイルス



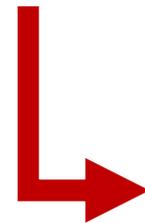
蚊細胞(C6/36細胞)で増殖した
デングウイルス

- フラビウイルス科フラビウイルス属
- エンベロープを被った直径約40-50nmの球状の一本鎖の(+)RNAウイルス
- 一本鎖RNA上には5' 非コード領域に続いてC蛋白質, prM蛋白質, E蛋白質の3種類の構造蛋白質とNS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, NS5の7種類の非構造蛋白質および3' 非構造領域が存在
- 特にE蛋白質は宿主親和性, 細胞吸着等に関っており, DENVに対する防御免疫を誘導する主体となる蛋白質

デングウイルスの感染環



ヒト



ヒト

ヒトスジシマカ (*Ae. albopictus*)

ネッタイシマカ (*Ae. aegypti*)

デング熱の病態

- DENVには4つの異なる型のウイルスが存在するが、DENVの初感染（primary infection）により産生される抗体はDENV型間において交差反応性をもつ
- 同じ型のウイルスに対しては終生免疫が成立するため再感染しない
- 他の型のDENVに対する交差防御免疫は短期間で消失するためその後、他の型のDENVに感染・発症しうる（二次感染：secondary infection）
- 初感染時に誘導された中和能を有しないDENV型交差抗体が再感染時にDENVとの免疫複合体を形成し、単球・マクロファージ等のFcγ受容体(FcγR)を有する細胞に特異的に吸着、その感染を増強させる抗体依存性感感染増強（ADE）が重症デング熱の一因として考えられている

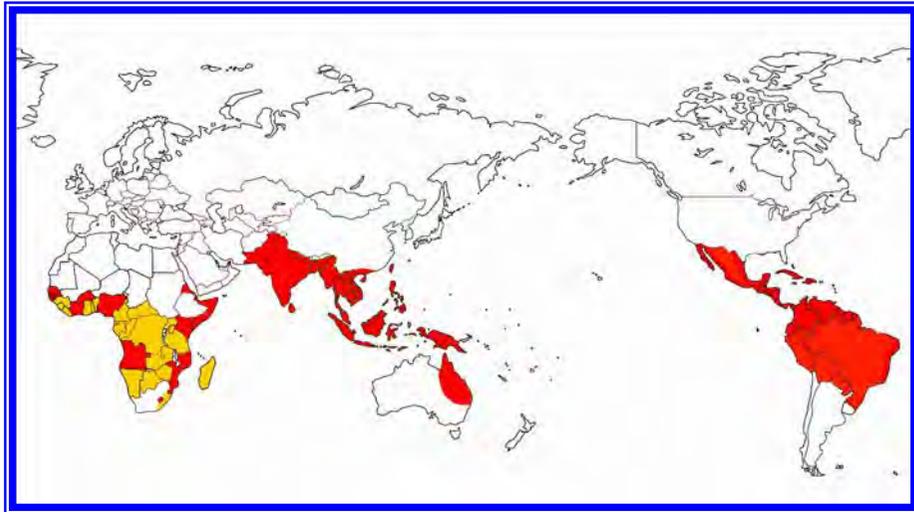
重症デング熱

- 重症デング熱(SDF)はデング熱発症後3~7日後に解熱とともに急速に悪化することが多い
- SDFに移行すると、重度の皮下出血(点状出血, 斑状出血), 血便, 血尿, 重度の血漿漏出, 呼吸窮迫, 肺水腫, 肝障害, 心機能障害, 多臓器障害, 脳炎, 意識障害を呈し, ショック, 消化管からの大量出血, 脳内出血等により死に至る
- 流行地では患者の約9割は小児
- SDFはショック, 呼吸困難を伴う血漿漏出による体液貯留, 重度の出血, 1,000 IU / L以上のトランスアミナーゼの上昇, 意識障害, 肝機能障害, 心機能障害または脳炎などの重度の臓器障害によって定義
- SDFの兆候として, 解熱(38° C未満)に伴い, 激しい腹痛, 呼吸数増加, 持続的な嘔吐, 吐物中の血液混入, 粘膜出血, 鼻出血, 血小板数の急激な減少, 肝腫大(>2 cm), 四肢寒冷, あくび, 口囲蒼白, 頻脈, 低血圧等の症状を呈す
- 患者は無気力, 不安, 興奮状態が認められるがこれらの兆候を認めずにSDFに移行する症例もある



2005年東チモールにおけるデング熱流行時の重症デング熱2歳児患者
死亡率8.4% (22/336)

デング熱の流行



- デング熱(DF)は東南アジア, 南アジア, 中南米, カリブ海諸国において患者の報告が多く, 世界の熱帯・亜熱帯の100カ国以上の国と地域において流行
- 年間3億9千万人がDENVに感染し, 9千6百万人が発症, そのうち2万4千人が死亡
- DFの報告数は年々増加傾向にあり, 世界におけるDF症例数は2008年には120万例, 2010年には220万例, 2016年には334万例を超えた
- 2019年は南北アメリカ地域で313万9千例(うち重症デング熱28,169人, 死者1,538人)、フィリピンで42万人, マレーシアで12万人, ベトナムで32万人, そしてシンガポールにおいて約1万5千人の患者が報告

2023年のブラジルにおけるデング熱の流行状況

CNN
Topics | World | USA | Business | Tech | Entertainment | Travel | Photo | Video | Odd News | Style | Op

World

リオデジャネイロ、デング熱で緊急事態宣言 カーニバル控え感染者急増 ブラジル

© 2024.02.08 Thu posted at 12:00 JST

ポスト | ブックマーク

PR
AMEXの法人カードで企業のキャッシュフローを可視化
旅に出たい！ CNNが海外の隠れたスポットなど紹介
CNN.co.jpメルマガ購読者募集中！



デング熱の救急医療施設で患者の治療に当たる看護師=6日、ブラジル・リオデジャネイロ/Pilar Olivares/Reuters

(CNN) リオのカーニバルに向けてお祭りムードが高まるブラジルのリオデジャネイロで蚊が媒介する感染症のデング熱が流行し、エドゥアルド・バエス市長が公衆衛生上の緊急事態を宣言した。CNN提携局のCNNブラジルが伝えた。

リオのカーニバルは数百万人が詰めかけてパレードやパーティーに熱狂する。カーニバルの連休は9日から始まり、14日まで続く。

米疾病対策センター（CDC）によると、デング熱は主にネッタイシマカを通じて感染する。世界では年間最大4億人が感染しており、蚊がウイルスを媒介する疾患の中では最も多い。

CNNブラジルによると、緊急事態宣言は5日に出された。

リオデジャネイロ市でデング熱のために入院した患者は、1月だけで362人に上り、2008年の記

ブラジル・リオデジャネイロでデング熱が流行し、エドゥアルド・バエス市長が公衆衛生上の緊急事態を宣言（2024年2月8日CNN）

2024年第5週まで
ブラジル全土のデング熱患者数
345,235名（死者31名）
リオデジャネイロのデング熱患者数
11,202名

CNNホームページより

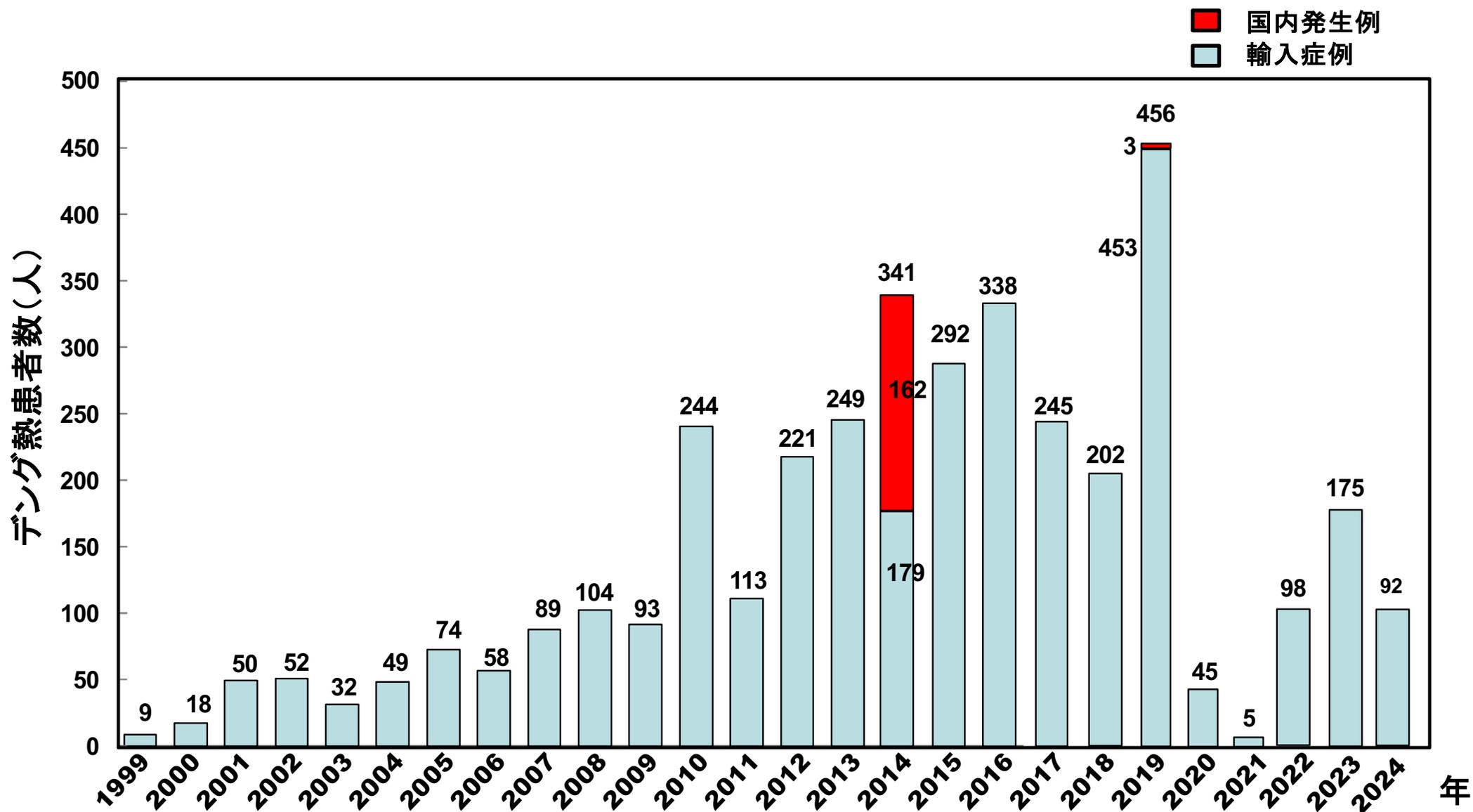
2023年の東南アジアにおけるデング熱の流行状況

- ベトナム 166,619人(死者42名)
- フィリピン 195,603人(死者657名)
- マレーシア 120,418人(死者96名)
- シンガポール 9,663人
- ラオス 31,997人(死者20名)
- カンボジア 31,567人(死者39名)
- タイ 158,705人(死者181名)

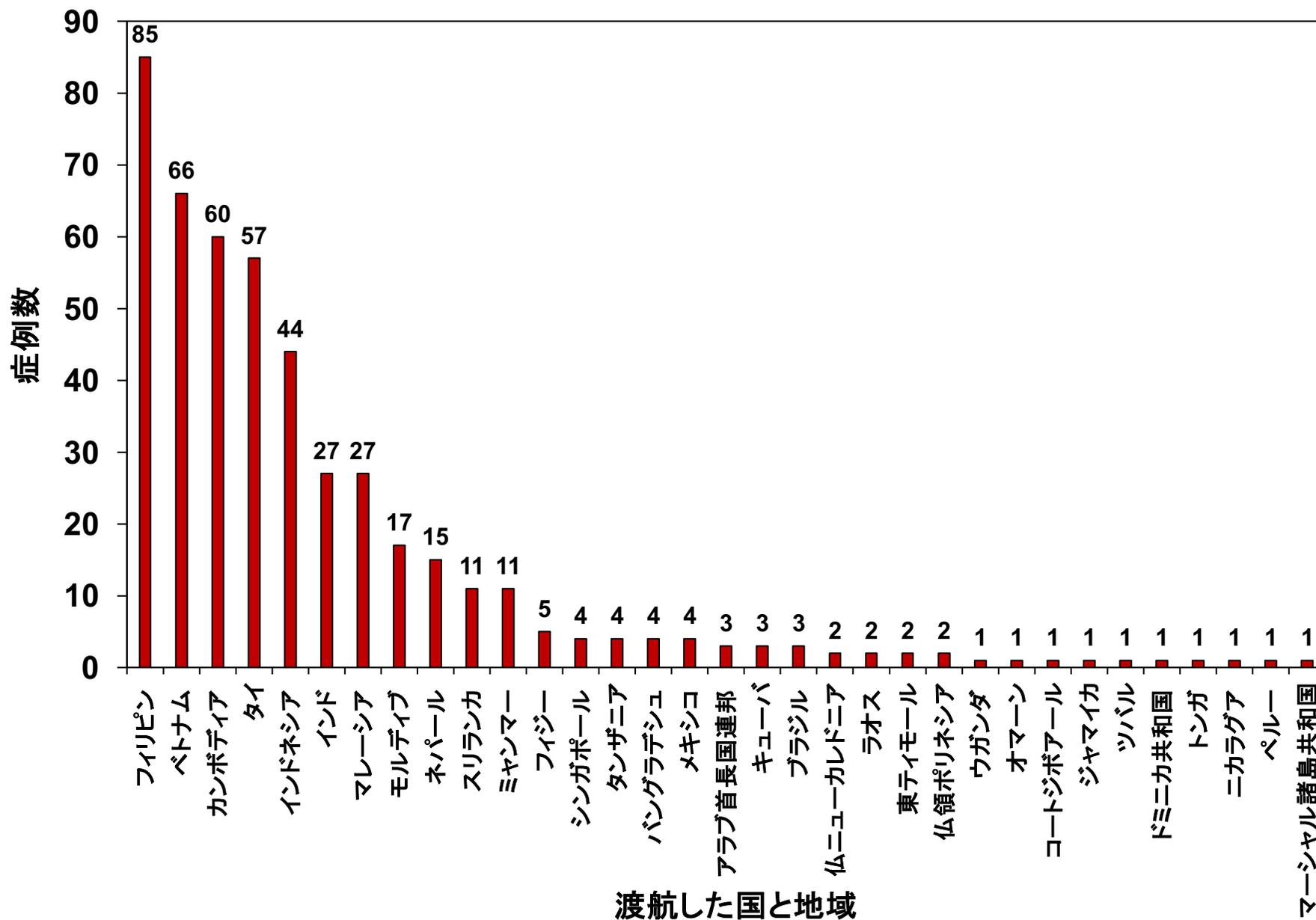
2010年から現在までのヨーロッパにおけるデング熱国内発生

年	国と地域	患者数	発生日
2010	クロアチア	10	8-10月
	フランス	2	8-9月
2013	フランス	1	9-10月
2014	フランス	4	7-9月
2015	フランス	8	7-9月
2018	フランス	8	9-10月
	スペイン	6	8-10月
2019	スペイン	1	9月
	フランス	9	7-9月
2020	フランス	13	7-10月
	イタリア	10	8月
2021	フランス	2	7月、9月
2022	フランス	65	6月-9月
	スペイン	6	8月-10月
2023	フランス	43	7-10月
	イタリア	81	7月末-11月
	スペイン	3	8-10月

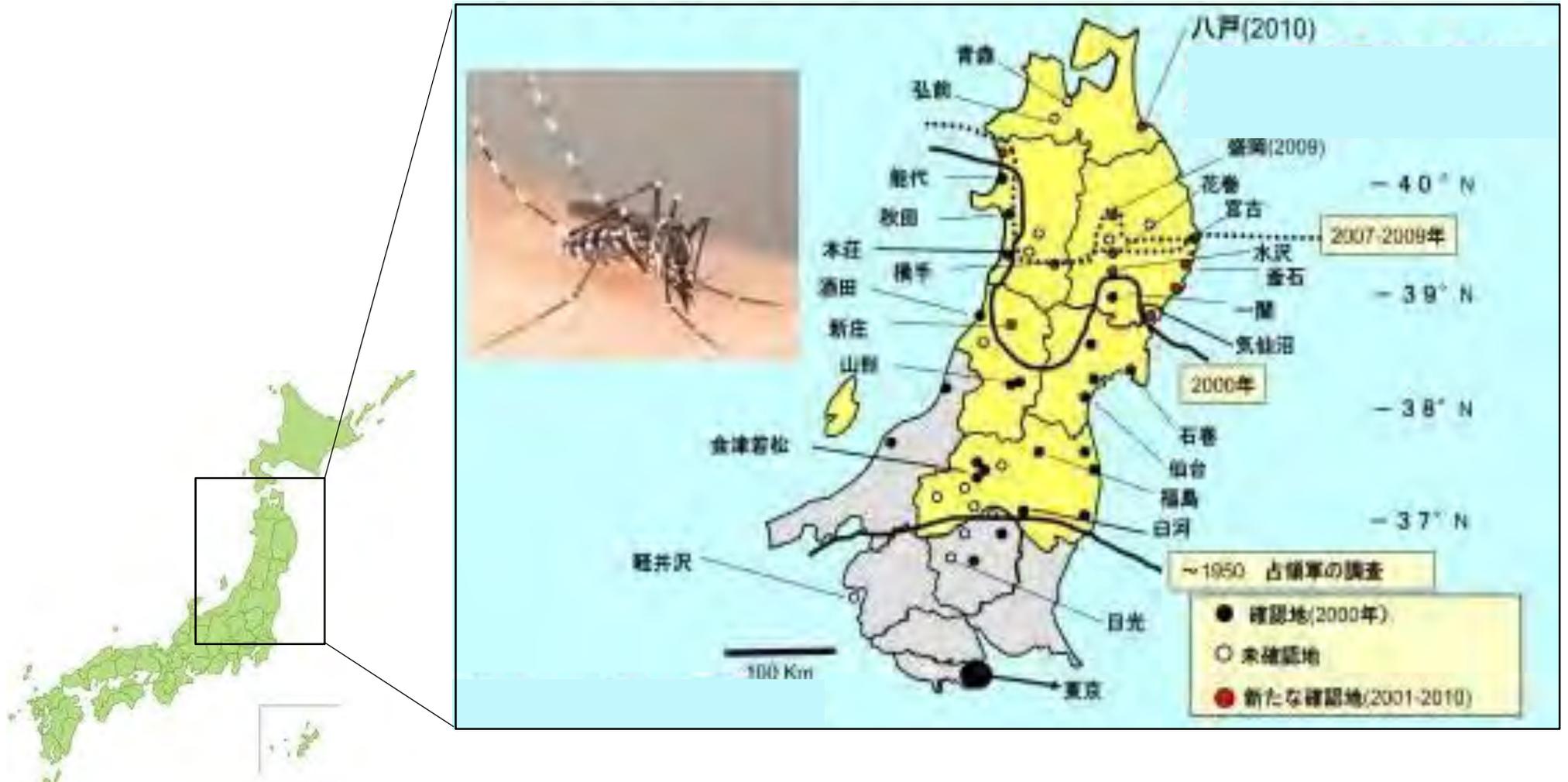
国内の1999年4月-2024年第25週におけるデング熱症例の推移



2019年における渡航先別デング熱輸入症例数



国内におけるヒトスジシマカの分布域の拡大



まとめ

- デング熱・デング出血熱はデングウイルスによる蚊媒介性の急性熱性疾患である
- 2023-2024年のシーズンではブラジルにおいて大きな流行が発生した
- 2023年には東南アジアにおいてもデング熱の流行が認められた
- ヨーロッパではデング熱の国内発生例が2012年以来散発している
- 海外との人的交流の再開によりデング熱の国内患者数は2019年以前の水準に増加傾向にある

日本脳炎ウイルス

日本脳炎の分布

- アジアの温帯地方、熱帯地方に広く分布している.
- 過去日本脳炎の報告がなかったパプアニューギニアにおいても、1997年に患者の報告がなされた.
- 1995年にオーストラリアのトレス海峡Badu島、1998年にBadu島・ヨーク岬半島にて日本脳炎患者の発生
- 2022年にオーストラリア南部にて日本脳炎患者が報告
- WPRは2030年までに域内の15歳以下の子供の日本脳炎ワクチン接種率を95%に引き上げることを目標としている

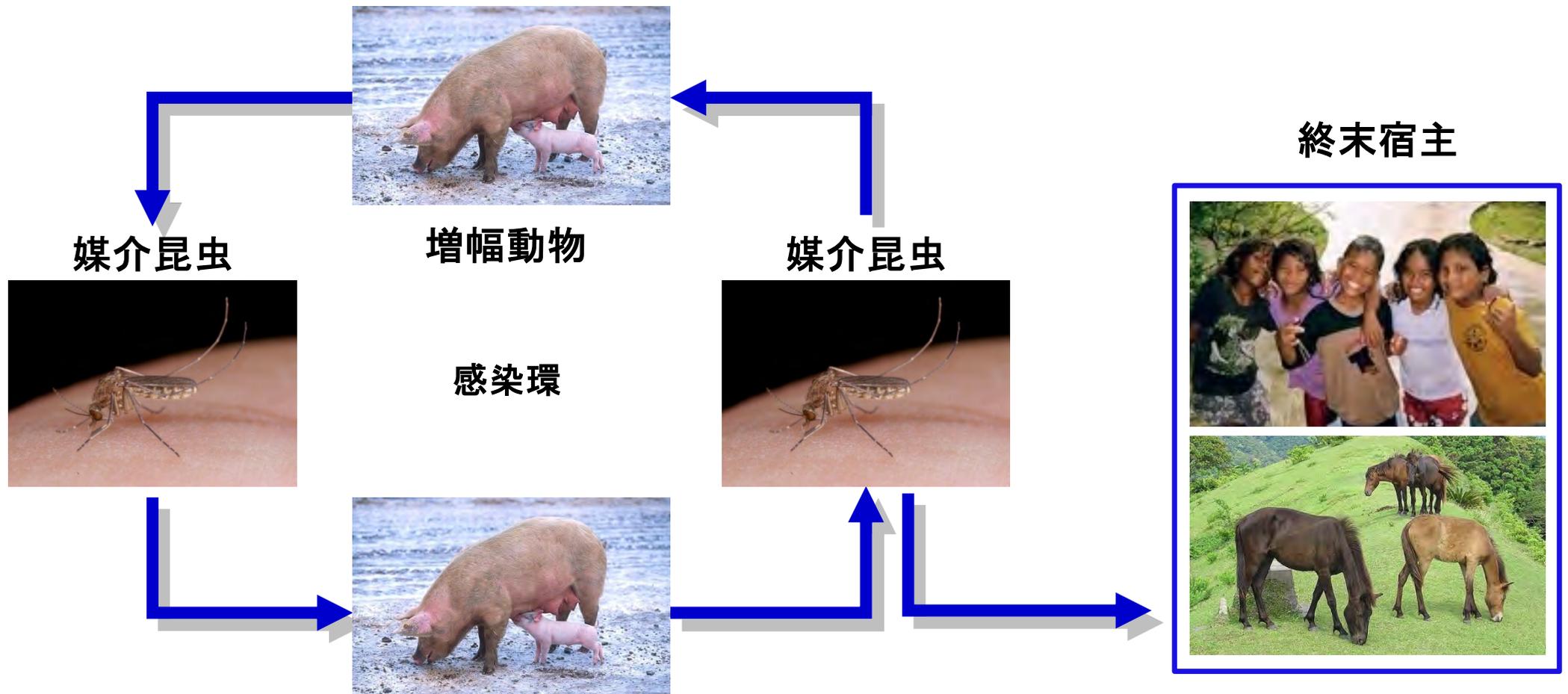


WHO西太平洋地域における日本脳炎患者数の推移

Country and Region	Surveillance program	Number of reported cases								
		2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	(year)
Australia	National	1	4	1	3	0	1	0	3	
Cambodia	sentinel (6)	55	41	60	48	10	5	11	1	
China	sentinel (27)	1763	2178	858	624	1130	1147	1800	369	
Japan	National	2	9	2	2	11	3	0	10	
Lao	sentinel (3)	23	9	4	13	19	9	11	96	
Malaysia	National	22	12	47	36	59	20	28	48	
Papua New Guinea	sentinel (1)	0	0	1	4	0	1	0	0	
The Philippines	sentinel (9)	24	25	69	115	312	361	204	143	
Korea R.	National	20	14	26	40	28	9	-	34	
Singapore	National	0	0	0	-	-	0	0	-	
Viet Num	sentinel (9)	183	224	421	368	357	200	313	196	

WHO vaccine-preventable diseases: monitoring system

日本脳炎ウイルスの生態



- 日本やタイではコガタアカイエカとブタの間で日本脳炎ウイルスの感染環が形成されている
- 日本脳炎ウイルスは、おもにブタの体内で大量に増えて、その血を吸った蚊が感染し、ウイルスを排出する
- ヒトは日本脳炎ウイルスに感染したコガタアカイエカに吸血されることで感染する
- ヒトで血中に検出されるウイルスは一過性であり、量的にも極めて少なく、ヒトからヒトへの感染はない

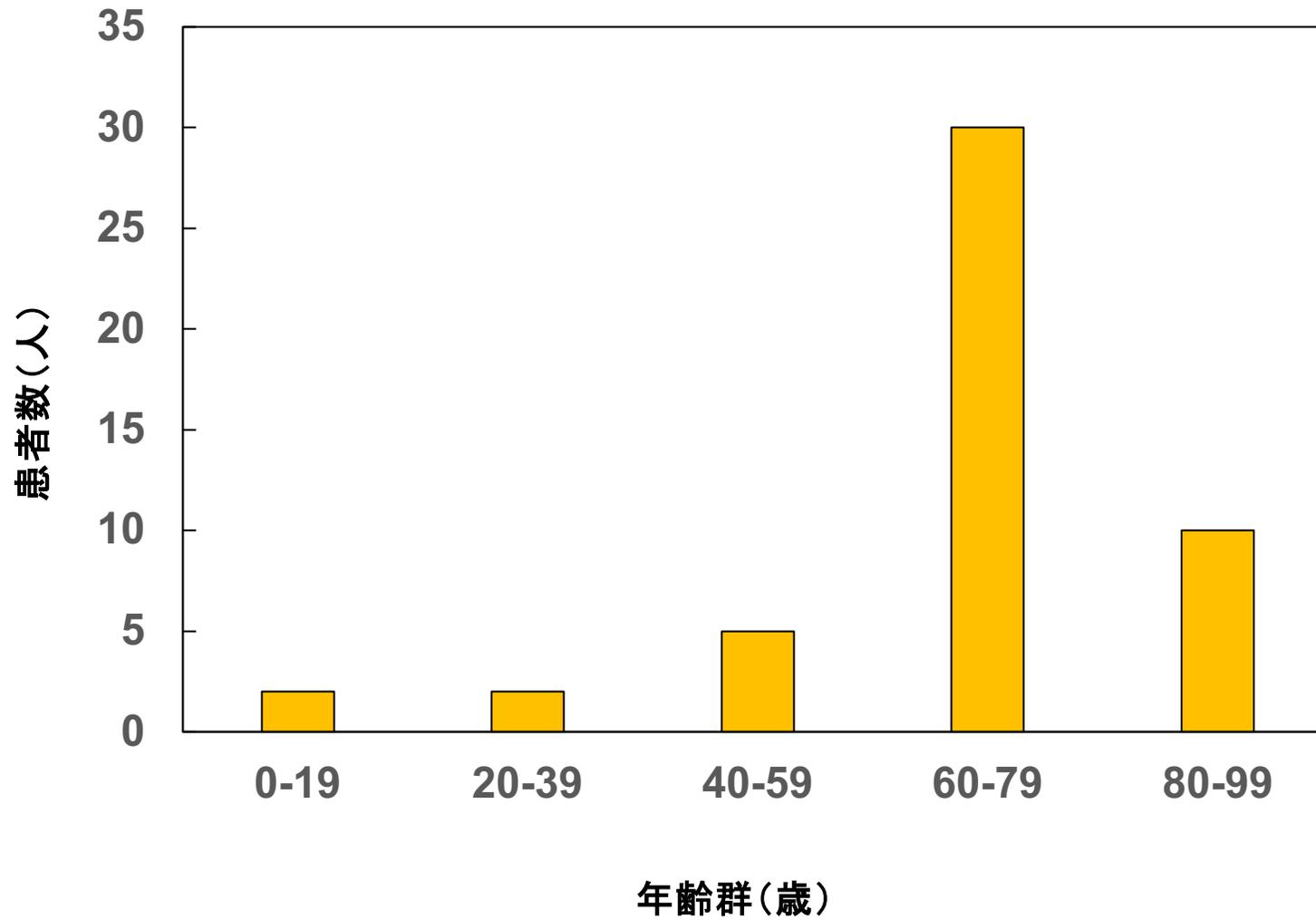
Human Japanese encephalitis cases in Japan, 1991-2022

year	total	under 14	under 7	year	total	under 14	under 7
1991	14	1	0	2007	9	0	0
1992	4	0	0	2008	3	0	0
1993	8	0	0	2009	3	2	2
1994	4	0	0	2010	4	1	1
1995	2	1	1	2011	9	2	1
1996	4	0	0	2012	2	0	0
1997	4	0	0	2013	9	0	0
1998	2	0	0	2014	2	1	1
1999	5	0	0	2015	2	1	1
2000	7	0	0	2016	11	0	0
2001	5	1	0	2017	3	0	0
2002	8	0	0	2018	0	0	0
2003	2	1	0	2019	10	0	0
2004	4	0	0	2020	5	0	0
2005	7	0	0	2021	3	0	0
2006	8	1	1	2022	4	0	0
				2023	7	0	0

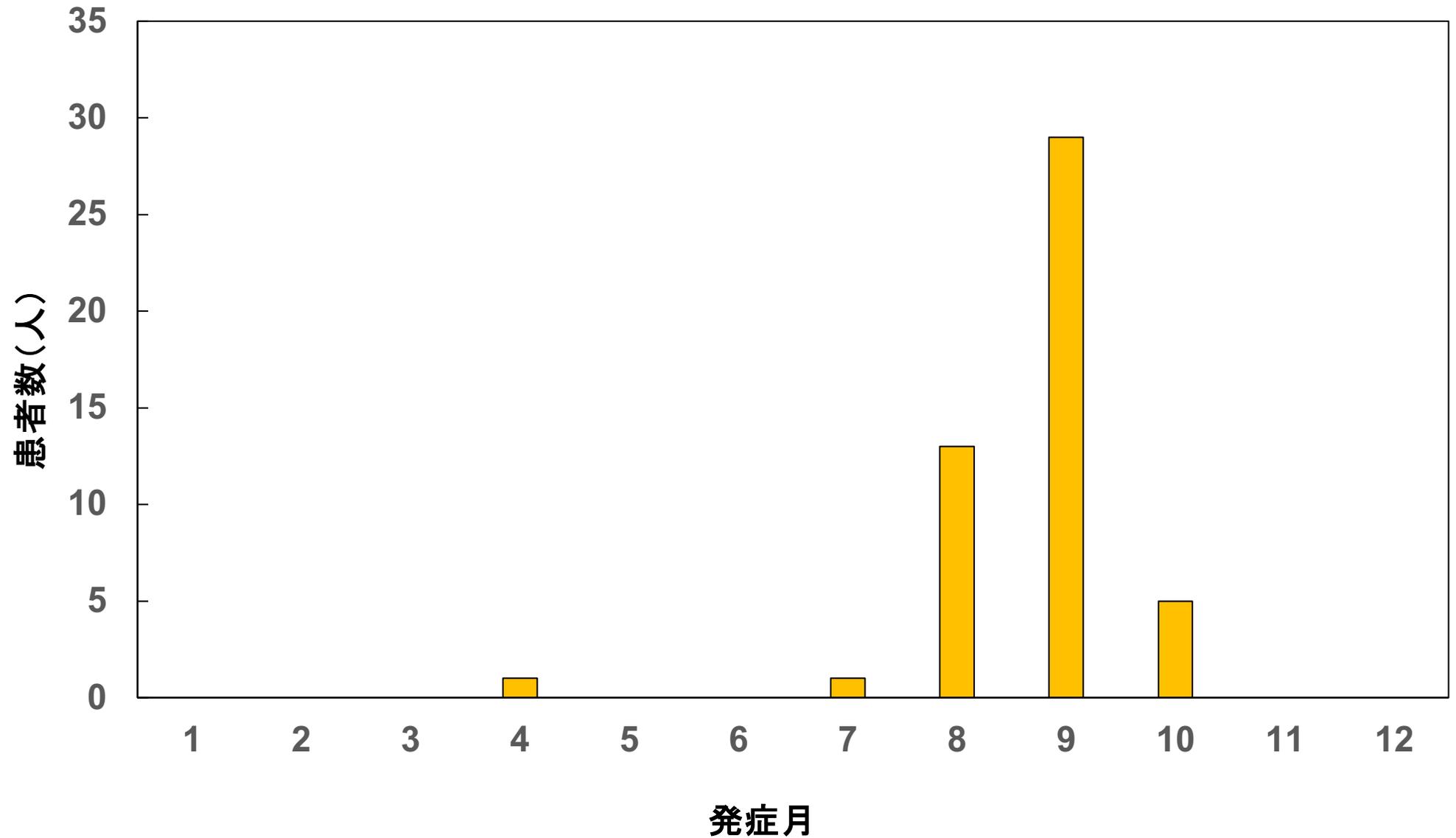
2023年日本脳炎発生状況

発生県	性別	年齢	発症年月
茨城県	男	54	2023/08/09
茨城県	男	65	2023/09/15
静岡県	男	72	2023/08/28
熊本県	男	79	2023/09/04
大阪府	男	82	2023/10/11
熊本県	男	69	2023/10/23
千葉県	男	85	2023/10/10

2013-2022年における日本脳炎患者の年齢分布

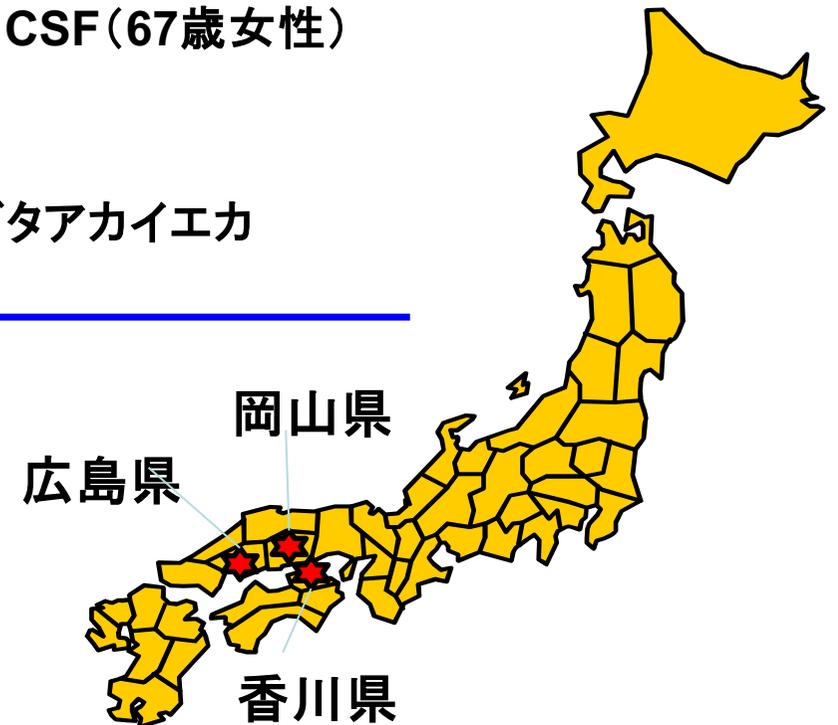


2013-2022年における日本脳炎患者の発症月



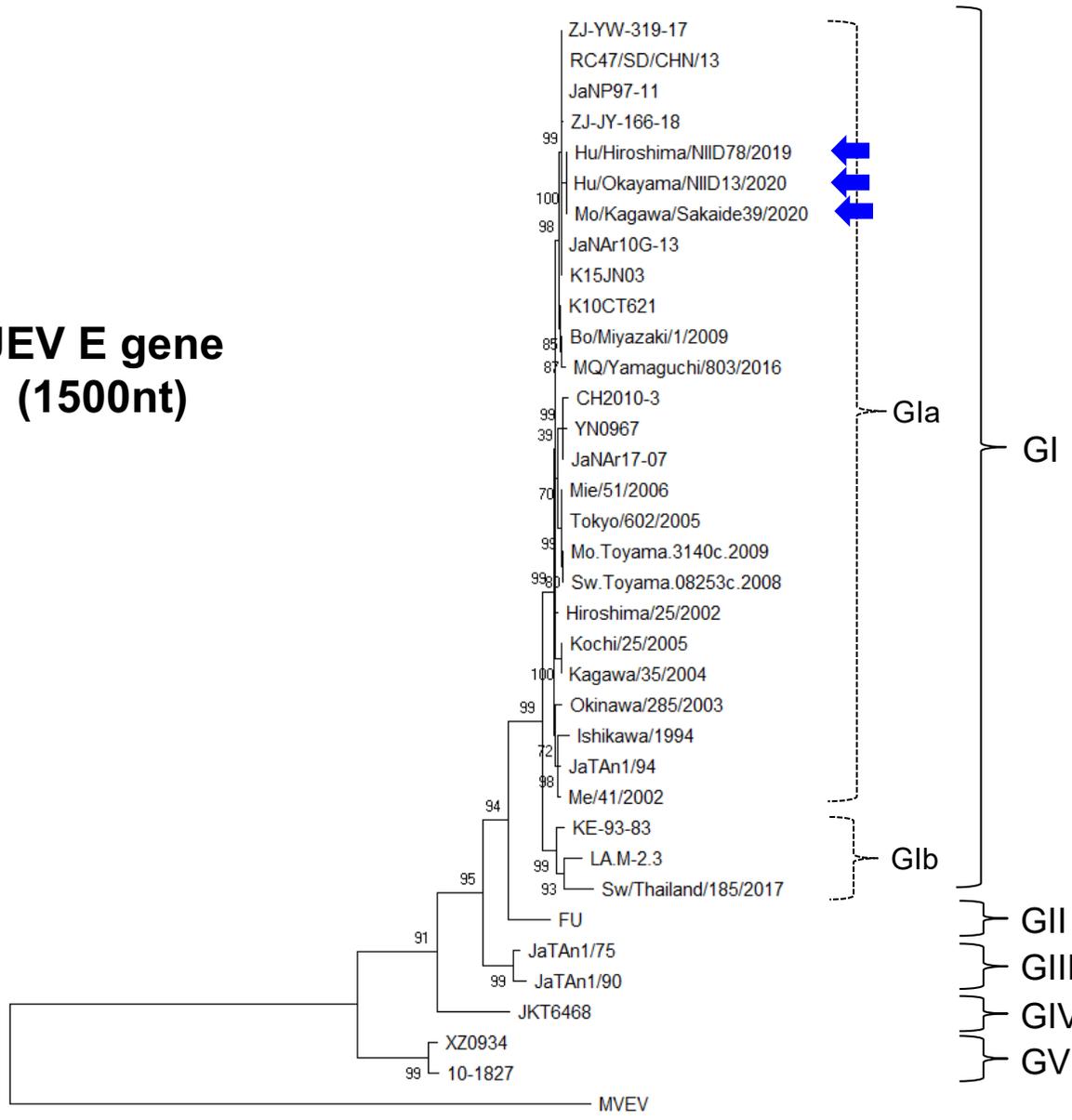
近年の日本脳炎国内流行株の遺伝子解析

株名	地域	年	検体
JEV/Hu/Hiroshima/ NIID78/2019 (NIID19-78)	広島県	2019	ヒト CSF (71歳男性)
JEV/Hu/Okayama/ NIID13/2020 (NIID20-13)	岡山県	2020	ヒト CSF (67歳女性)
Sakaide-39-2020-07 (NIID20-09)	香川県	2020	コガタアカイエカ



近年の日本脳炎国内流行株の遺伝子解析

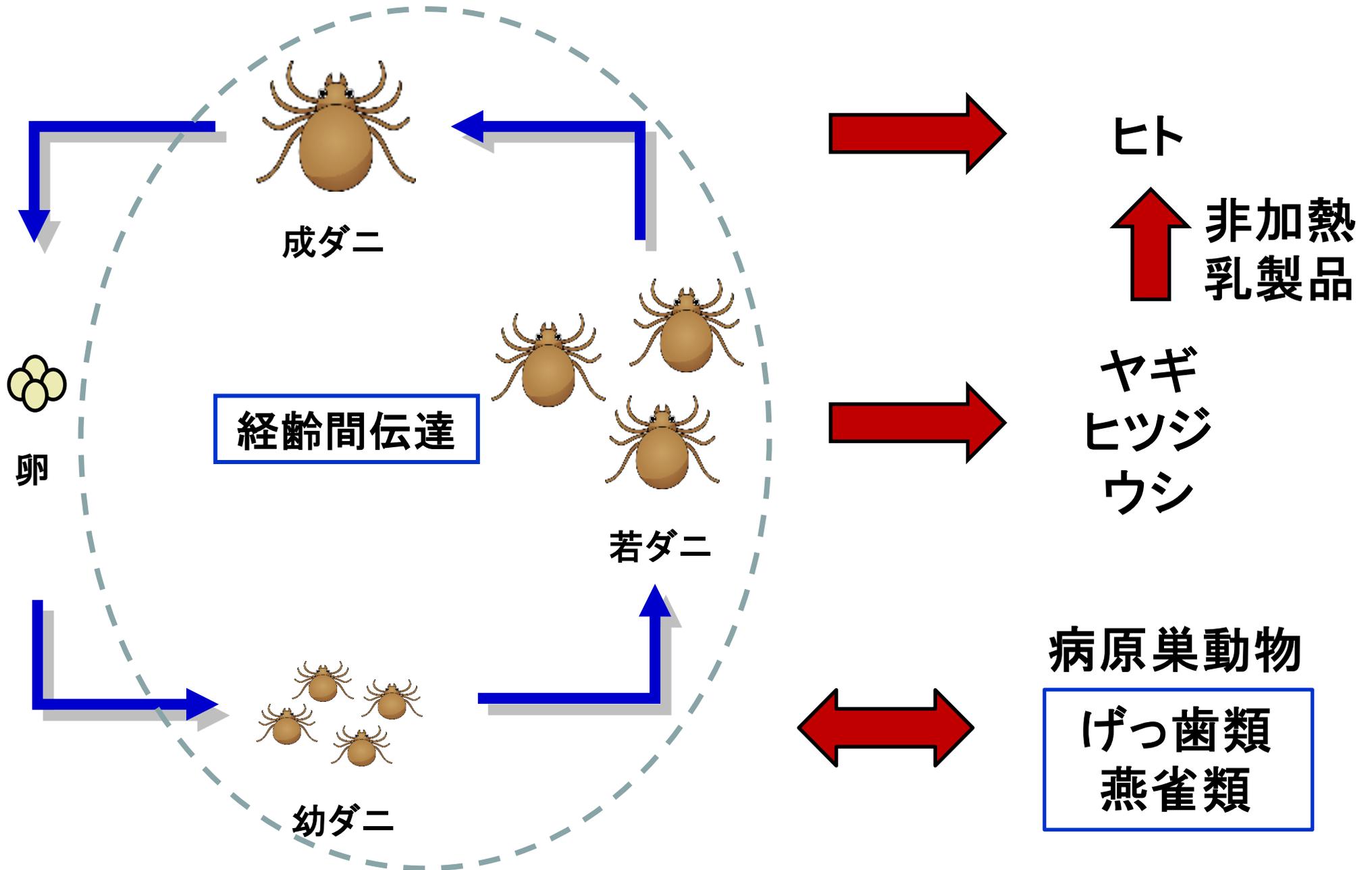
JEV E gene
(1500nt)



0.20

ダニ媒介脳炎

ダニ媒介脳炎ウイルスの生態





2024年3月作成（第1版）

貯 法：2～8℃で保存

有効期間：2.5年

生物由来製品、劇薬、処方箋医薬品^{注)}

001

日本標準商品分類番号

876313

ウイルスワクチン類

生物学的製剤基準

組織培養不活化ダニ媒介性脳炎ワクチン

タイコバック[®]

小児用水性懸濁筋注 0.25mL

TICOVAC[®] Junior suspension liquid for intramuscular injection 0.25mL

承認番号	30600AMX00125
販売開始	—

注) 注意-医師等の処方箋により使用すること

2. 接種不相当者（予防接種を受けることが適当でない者）

- 2.1 明らかな発熱を呈している者
- 2.2 重篤な急性疾患にかかっていることが明らかな者
- 2.3 本剤の成分に対し重度の過敏症の既往歴のある者
- 2.4 上記に掲げる者のほか、予防接種を行うことが不適当な状態にある者

3. 製法の概要及び組成・性状

3.1 製法の概要

本剤は、ダニ媒介性脳炎ウイルスをSPF発育鶏卵から採取したニワトリ胚初代培養細胞で増殖させ、得られたウイルスをホルムアルデヒドで不活化した後、精製し、安定剤及びアジュバント（水酸化アルミニウム懸濁液）を加えたものである。

なお、本剤は製造工程でブタ由来成分（トリプシン）、ニワトリの発育鶏卵及び人血液由来成分（人血清アルブミン）を使用している。

7.6 初回免疫完了前にダニ媒介性脳炎ウイルスに感染するリスクがある場合（ダニ媒介性脳炎流行時期における流行地域への渡航等）は、その前に本剤を2回接種すること。

8. 重要な基本的注意

- 8.1 本剤は「予防接種実施規則」及び「定期接種実施要領」に準拠して使用すること。
- 8.2 被接種者について、接種前に必ず問診、検温及び診察によって健康状態を調べること。[9.1参照]
- 8.3 被接種者又はその保護者に、接種当日は過激な運動は避け、接種部位を清潔に保ち、また、接種後の健康監視に留意し、局所の異常反応や体調の変化、さらに高熱、痙攣等の異常な症状を呈した場合には速やかに医師の診察を受けるよう事前に知らせること。
- 8.4 ショック、アナフィラキシーがあらわれることがあるため、接種前に過敏症の既往歴等に関する問診を十分に行うとともに、ショック、アナフィラキシーに対する緊急処置ができるよう、適切な監視

ContAmplicon挿入陽性コントロール、プローブの配布について

- 4種類のデングウイルス各血清型 (D1+CA, D2+CA, D3+CA, D4+CA) の陽性コントロール (10^9 コピー /uLに調製した RNA液各 100uL) を配布した
- ContAmplicon Probe_DCZ (10uM, 10pmol/uL) 100uLも同時に配布した
- これにより汚染確認とコピー数の算出が可能である
- 陽性コントロールの希釈液 (10ug/mL yeast tRNA溶液 (Thermo #AM7119)も同時に配布した

まとめ

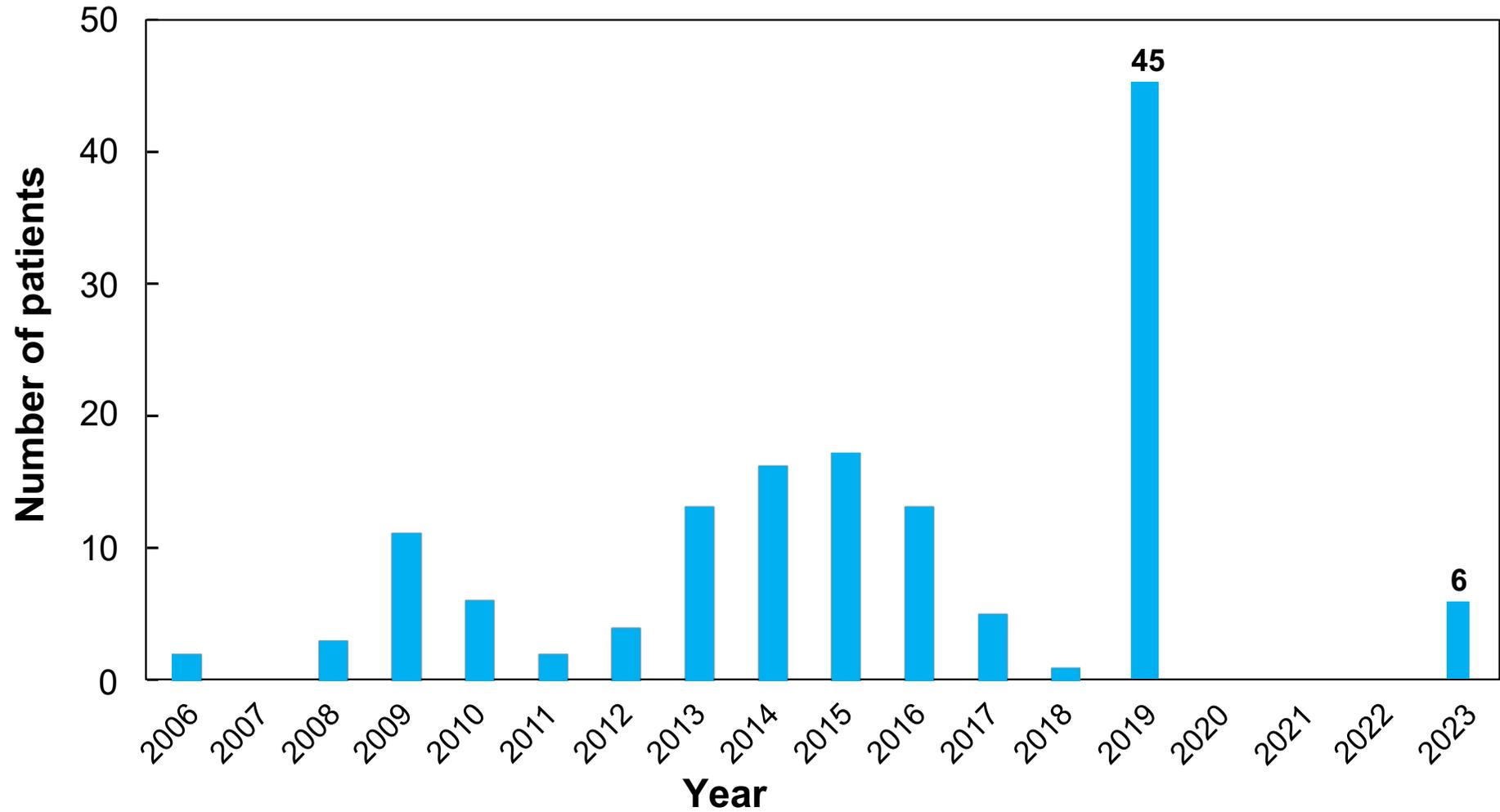
- 各地衛研の希望により、遺伝子検査用陽性対照を分与した
- 遺伝子検査用陽性対照の見直しを行い、各アルボウイルスレファレンスセンターに新たに作製したデングウイルス1型～4型のContAmplicon挿入陽性コントロールおよびプローブを配布した結果、検体中の遺伝子コピー数の測定が可能となり、また汚染対策も強化された
- 今後はアルボウイルスレファレンスセンターにおける汚染コントロール配列を挿入した陽性対照の検討を経て、各地衛研への陽性対照の配布を実施する
- また今後は他のアルボウイルスについても汚染コントロール配列を挿入した陽性対照を作製し、地衛研への配布を行う

オロプーシェ熱

- ブニヤウイルス目ペリブニヤウイルス科オルソブニヤウイルス属シンプ
血清型群に分類される
- 中南米で蔓延している熱性疾患
- オロプーシェウイルス(Oropouche virus) に感染することにより発症
- 媒介昆虫はヌカカ (*Culicoides paraensis*)
- ネットアイエカ (*Culex quinquefasciatus*) から分離
- ナマケモノ亜目、マーモセット等の霊長目、齧歯目 の哺乳類や鳥類か
らオロプーシェウイルスが検出
- 1955年にトリニダード・トバゴの発熱患者から分離・同定
- 中南米全域でこれまでに50万人以上がオロプーシェウイルスに感染し
たと推定
- ブラジル、エクアドル、パナマ、ペルー、トリニダード・トバゴ、コロンビア
、アルゼンチン、ボリビア、ベネズエラ、フランス領ギアナ、ハイチ、キュー
ーバ において農村部や森林地帯を中心に患者が報告
- 2024年にイタリアおよびスペインにおいてキューバからの輸入症例が
報告された

チクングニア熱

The chikungunya fever cases in Japan, 2006-Oct. 2023



まとめ

- 現在もチクングニアの流行は拡大しており、2013年末にはその流行は西半球に及んだ。
- 輸入症例患者の渡航先はインド、スリランカ、インドネシア、マレーシア、タイ、ミャンマーのCHIK流行地域であることから、流行地域への渡航者の注意喚起がいっそう重要である。
- チクングニア熱の輸入症例は2019年には45例報告された
- 2020年～2022年において輸入症例は認められなかったが、2023年には6例の輸入症例が報告された

キャサヌル森林病ウイルスおよびオムスク出血熱ウイルスの ゲノム検出法(ウイルス遺伝子検査法)の整備

DENV-CHIKV-ZIKV TaqMan real-time RT-PCR用
陽性コントロールについて(おさらいと変更点)

国立感染症研究所・ウイルス第一部

アルボウイルスセンター会議

2024年7月10日

キャサヌル森林病(三種):

Kyasanur forest disease virus (KFDV) が原因ウイルス (BSL3)。

南アジア(インド)を中心に蔓延。自然界ではマダニとげっ歯類の間で感染環が維持。ヒトが感染した場合、潜伏期間は3~12日。症状は発熱、頭痛、筋肉痛、消化器症状、出血。約40%に出血性肺水腫がみられ、ときに腎不全も生じる。患者の15~50%は1~3週間寛解後再度発熱を呈し、髄膜炎や脳炎発症する。致死率は3~5%であり、後遺症を残すことはない。

オムスク出血熱ウイルス(三種):

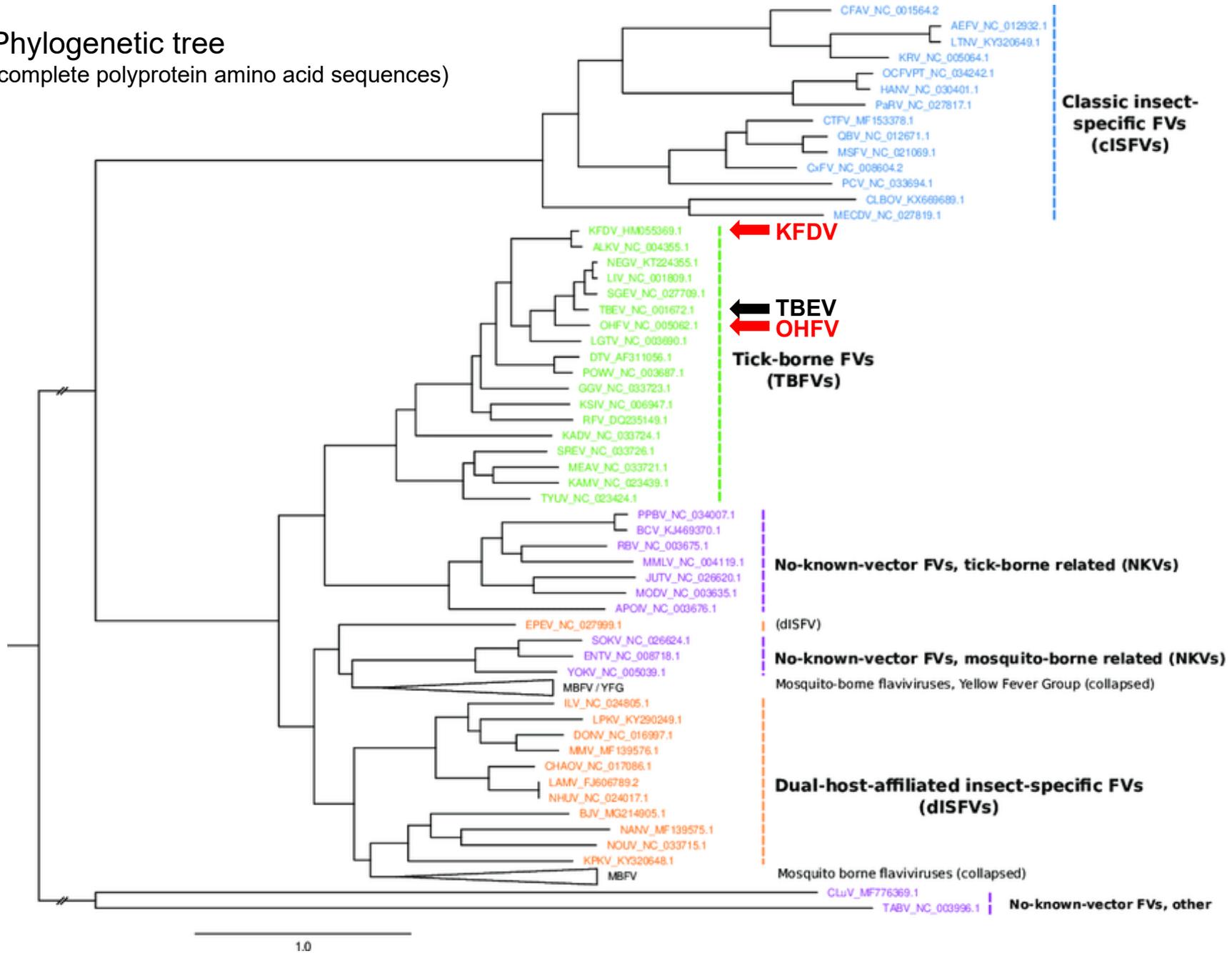
Omsk Hemorrhagic fever virus (OHFV)が原因ウイルス (BSL3)。

西シベリアを中心に蔓延。自然界ではマダニとげっ歯類の間で感染環が維持。ヒトが感染した場合、潜伏期間は3~9日。症状は発熱、頭痛、筋肉痛等、まれに出血熱となる。患者の30~50%は二相性の発熱を呈し、後期には髄膜炎や腎機能障害等がみられる。致死率は0.5~3%。神経精神障害などの後遺症を残すことがある。

(厚生労働省ホームページを改変)

ともに、**ダニ媒介性フラビウイルス**感染症である。

Phylogenetic tree
(complete polyprotein amino acid sequences)



TaqMan primers and probe

Kyasanur Forest Diseases Virus

Name	Sequence	Region in MG720077	Ref.
KFDNS 5F	TGG AAG CCT GGC TGA AAG AG	9573-9592	
KFDNS 5R	TCA TCC CCA CTG ACC AGC AT	9636-9617	Journal of Virological Methods 186 (2012) 49– 54
KFDNS 5P	FAM-ATG GAG AGG AGC GCC TGA CCC G-BHQ	9594-9615	

Omsk hemorrhagic fever virus

Name	Sequence	Region in MT354629	Ref.
OHF-d1F	GGC ACA RAC CGT TGT TCT TGA GCT	1554-1577	
OHF-d2R	GCG TTC WGC ATT GTT CCA WCC CAC CAT	1692-1666	Viruses 2022, 14, 754.
OHF-d12Probe	HEX*-AGG TGT TCT GCT GTC TTG TCG AGC-BQH1	1598-1575	

*: 論文ではJOE。今回の合成ではHEX。QS5ではVIC指定。

Positive Control RNA合成用配列(300ヌクレオチド)

Name	Sequence	Region in MG720077
KFDV synRNA用	TCGGGAGGCTGCGTCATGGACATCATAACCAGAAGAGACCAACGTGGTTCAGGCCAGGTGGT GACCTACGCTCTAAACACCCTCACGAACATCAAGGTGCAGCTTATCCGCATGATGGAGGGAGA GGGCGTGATCGGGCCATCTGACTCACAGGACCCGCGACTCCTACGTGTGGAAGCCTGGCTGA AAGAGCATGGAGAGGAGCGCCTGACCCGCATGCTGGTTCAGTGGGGATGATTGCGTTGTGAGA CCAATTGACGACCGCTTCGGGAAGGCCCTCTACTTCCTAAATGACATGGCC	9401-9700 (NS5)

Name	Sequence	Region in MT354629
OHFV synRNA用	GGCGAATACGGAGACGTGTCGCTGATGTGCAGAGTCGCTAGTGGCGTTCGATCTGGCACAAC CGTTGTTCTTGAGCTCGACAAGACAGCAGAACACCTCCCCACGGCATGGCAGGTTACAGAGA TTGGTTTAACGATCTAGCTCTGCCTTGGAACATGAGGGAATGGTGGGTTGGAACAATGCTGAA CGCCTGGTTGAGTTTGGAGTTCCTCACGCCGTGAAGATGGATGTTTACAACCTTGGGGACCG ACTGGGGTGCTATTAATACTCACTCGCCGGAGCCCCACTGGCGCACATC	1501-1800 (E)

* In vitro transcription により、1本鎖RNAを合成し、陽性コントロールとして使用した。

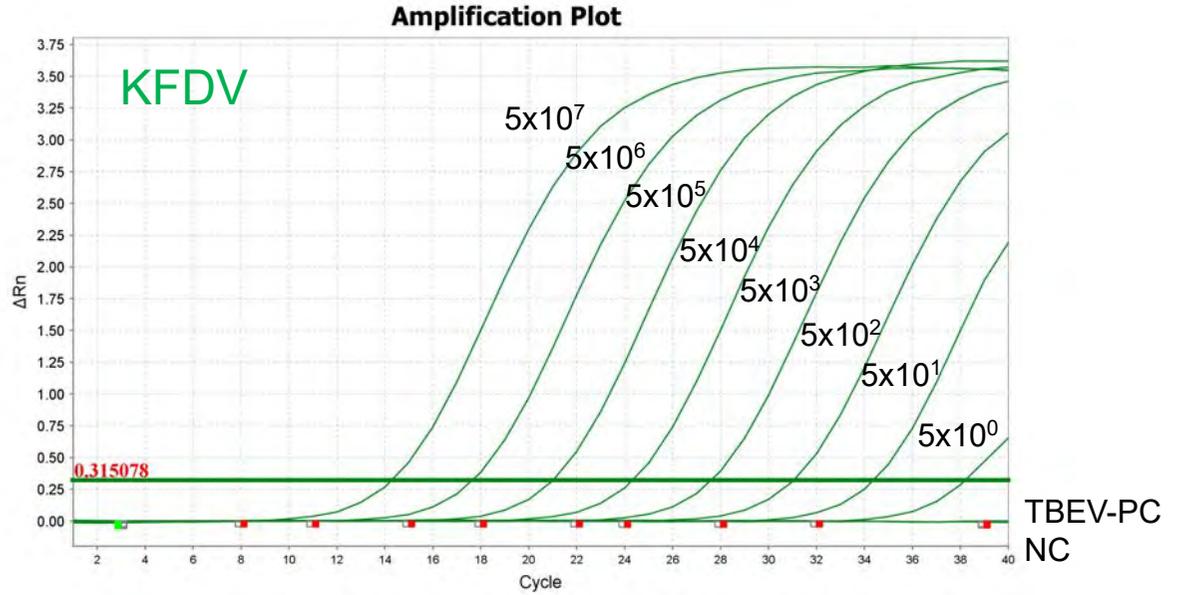
Realtime PCR

Reagent	Volume (uL)
DW	7.6
4xFast Virus M	5
Primer F (10uM)	1
Primer R (10uM)	1
Probe (10uM)	0.4
RNA soln	5

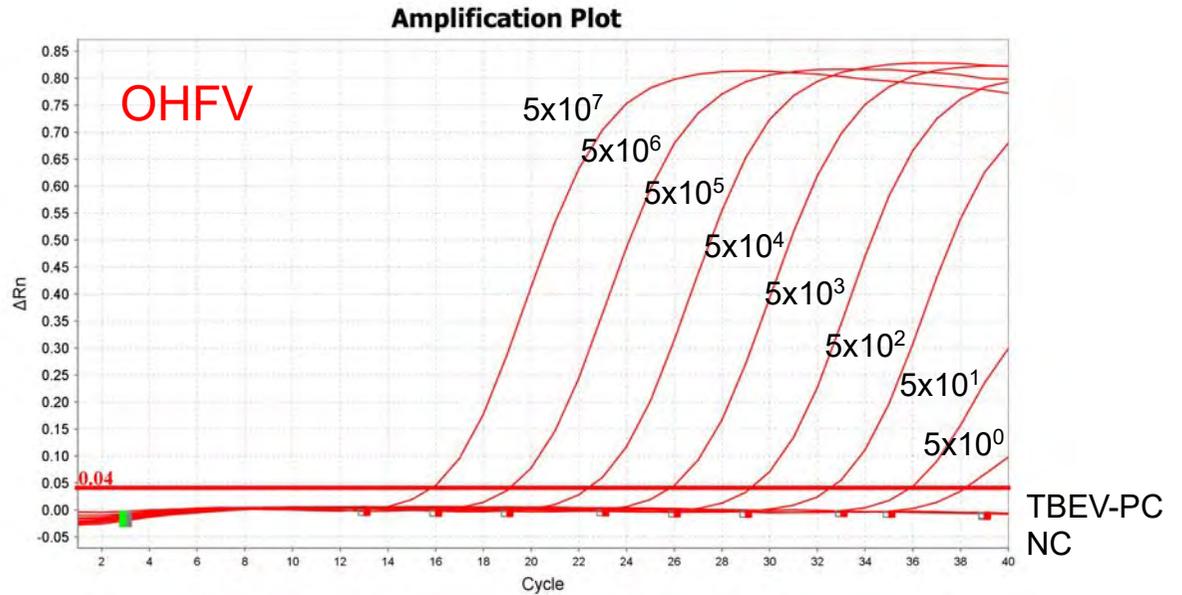


	48C	5 min
	95C	20 sec
40 cycles	95C	3 sec
	57C	30 sec

QS5, Fast, 40 min



■ KFDV



■ OHFV

キャサヌル森林病ウイルスおよびオムスク出血熱ウイルスの
ゲノム検出法(ウイルス遺伝子検査法)の整備

DENV-CHIKV-ZIKV TaqMan real-time RT-PCR用
陽性コントロールについて(おさらいと変更点)

国立感染症研究所・ウイルス第一部
田島茂

アルボウイルスセンター会議
2023年12月6日

DCZ Primer-Probe sequence (2022.7)

	Primer	Sequence	Probe	Sequence
D1	D1MGBEn469s	GAACATGGRACAAYTGCAACYAT	D1MGBEn493p	FAM-ACACCTCAAGCTCC-MGB
	D1MGBEn536r	CCGTAGTCDGTCAGCTGTATTTCA		
D2	D2MGBEn493s	ACACCACAGAGTTCCATCACAGA	D2MGBEn545p	FAM-CGATGGARTGCTCTC-MGB
	D2MGBEn568r	CATCTCATTGAAGTCNAGGCC		
D3*	D3MGBEn1s.v2	ATGAGATGYGTGGGAGTRGGAAA	D3MGBEn27p	FAM-AGATTTTGTGGAAGGYCT-MGB
	D3MGBEn71r	CACCACDTCAACCCACGTAGCT		
D4	D4TEEn711s	GGTGACRTTYAARGTHCCTCAT	D4TEEn734p	FAM-CCAAGAGACAGGATGTGACAGTGCTRG GATC-TAMRA
	D4TEEn786c	WGARTGCATRGCTCCYTCCTG		
CHIKV	Taq-Chik607F	GCR CCM TCT KTA ACG GAC AT	Taq-Chik638P	FAM- TACCAGCCTGCACYC-MGB
	Taq-Chik672R	GCC CCC RAA GTC KGA GGA R		
ZIKV	ZIKV1086	CCGCTGCCCAACACAAG	ZIKV1107-FAM	FAM-AGCCTACCTTGACAAGCAGTCAGACAC TCAA-TAMRA
	ZIKV1162c	CCACTAACGTTCTTTTGCAGACAT		
CA			ContAmplicon	HEX(VIC)-AGTAGCTTGCTCTTTCATCTGTTACG- BHQ1(none)

ContAmplicon_DCZ Realtime RT-PCRの反応系

(FV1step DCZ-CA)

TaqMan mix prep.	Duplex(V-CA)		
	Volume (uL)	Mixture	
	x1	x10	
DW	7.2	72.0	
4x Master Mix (Thermo Fisher: Fast Virus 1-step kit)	5.0	50.0	
Primer FR mix [5pmol/uL each]*	2.0	20.0	
TaqMan probe Virus [10pmol/uL]	0.4	4.0	
TaqMan probe CA [10pmol/ul]	0.4	4.0	15uL
Sample RNA	5.0		
Total	20.0		

*10pmol/uLを1uLずつ加えるのと同義

	DENV1	DENV2	DENV3	DENV4	CHIKV
Primer F	D1MGBEn469s	D2MGBEn493s	D3MGBEn1s.v2	D4TEEn711s	Taq-Chik607F
Primer R	D1MGBEn536r	D2MGBEn568r	D3MGBEn71r	D4TEEn786c	Taq-Chik672R
Probe Virus	D1MGBEn493p	D2MGBEn545p	D3MGBEn27p	D4TEEn734p	Taq-Chik638P
Probe CA**	ContAmplicon	ContAmplicon	ContAmplicon	ContAmplicon	ContAmplicon

**CA: VIC-Noneまたは
Hex-BHQ1

Machine:
QuantStudio5

RT	48°C	5 min
Denature	95°C	20 sec
Amplify	95°C	3 sec
40cycle	57°C	30 sec

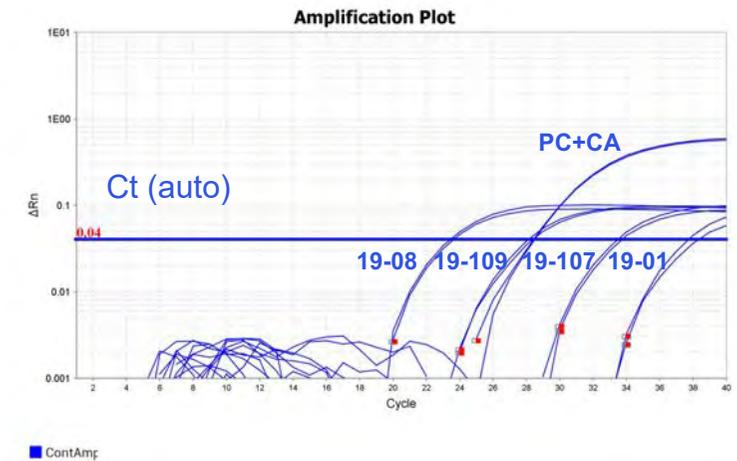
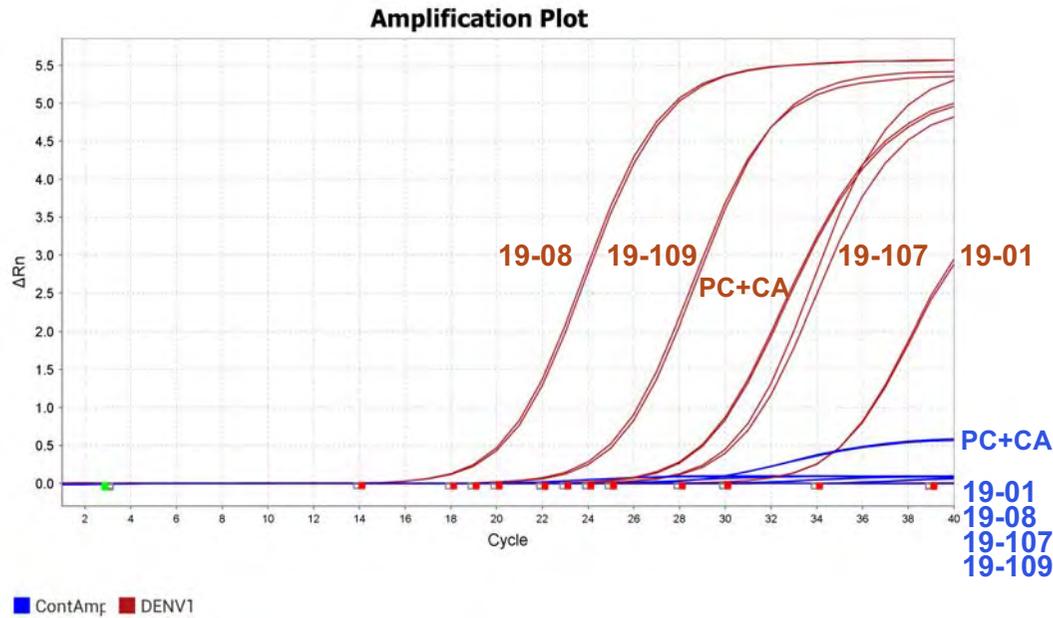
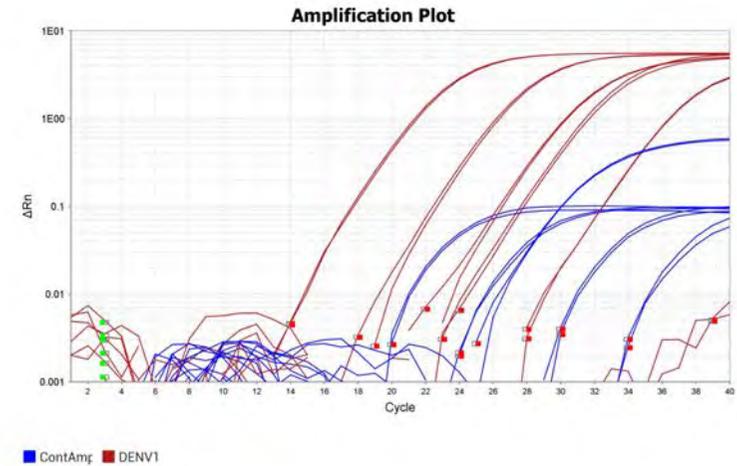
(fast)

臨床検体を使用した検討(DENV1-positive samples, duplicate)

Ct値*

Reaction mix	PC+CA	NC	19-01/1s	19-08/1s	19-107/1s	19-109/1s
D1	28.9	UD	35.0	20.1	30.2	24.9
D1-CA	28.4	UD	37.99	23.5	33.6	28.2

*auto, mean value



デングウイルス1型ゲノムと少し反応してしまうが、増幅パターンで判別可能。

ContAmplicon挿入陽性コントロール、プローブについて

- ✓ 今回は4種類のデングウイルス各血清型(D1+CA, D2+CA, D3+CA, D4+CA)の陽性コントロール(10⁹コピー/uLに調製したRNA液各100uL)を配布予定しています。
- ✓ プラスミドクローンより、in vitro transcription法により合成後、精製したRNAです。
- ✓ こちらを適当に希釈して使用してください(1点ならば、10³コピー/uLなど)。
- ✓ コピー数を算出したい場合は、適当に階段希釈して使用してください。
- ✓ 希釈には、10ug/mL yeast tRNA溶液 (Thermo #AM7119を希釈)を使用してください。
- ✓ 5uL程度を1反応に使用してください。
- ✓ 凍結融解は数回以内にしてください。希釈後(低濃度物)は特に注意してください。
- ✓ **ContAmplicon Probe DCZ(10uM, 10pmol/uL) 100uL**も一緒にお配りいたします。
- ✓ 今回配布予定のプローブはSigma-Aldrich (色素:HEX-BHQ1)で合成したのですが、ユーロフィン等(色素:VIC-none)で合成したものでも問題ありません(今回の検討ではVIC-noneを使っています)
- ✓ まずは各々使用している通常の反応系で試用してください。

(2021年度に配布済み)

JEV用リアルタイムプライマー・プローブセット(遺伝子型別)の改変

リアルタイムRT-PCR用プライマーによるJEVゲノムの増幅 (E region, TaqMan, automatic Ct)

GI, GIII common

Primers: JEen562s, JEen623c
Probe: JEen585pb (FAM-MGB)

GI specific

Primers: JE1&3en1052s-1082, JE1en1119c-1082
Probe: JE1en1082pb (FAM-MGB)

GIII specific

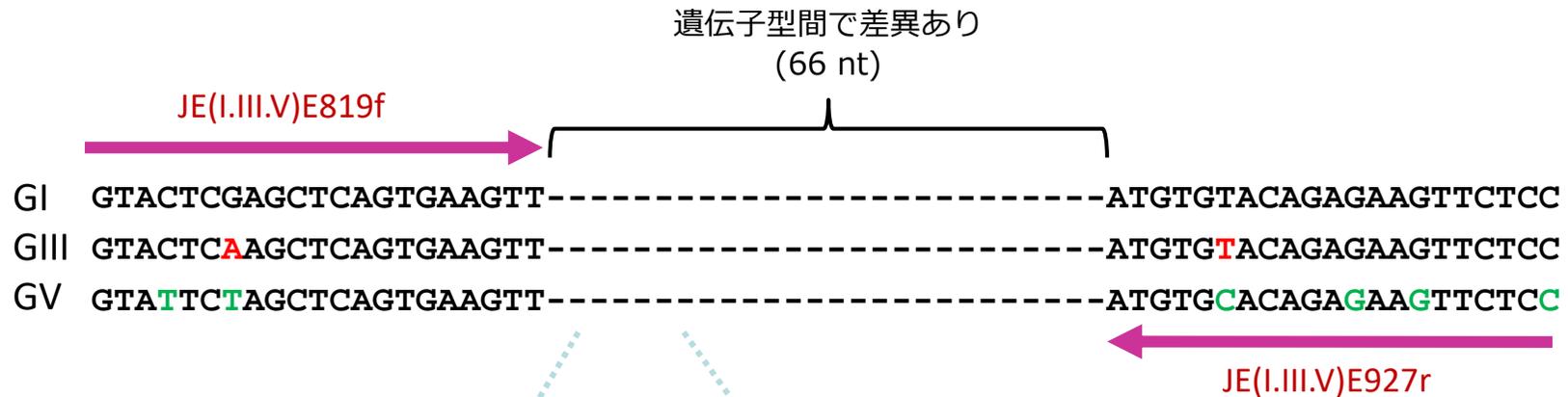
Primers: JE1&3en1052s-1082, JE3en1119c-1082
Probe: JE3en1082pb (FAM-MGB)

		Primer set		
		GI, GIII common*	GI specific	GIII specific
GI	Hiroshima/46/1998	14.5	23.2	ND
	Mie/41/2002	15.2	18.2	ND
	Mie/51/2005	17.1	28.0	ND
GIII	JaTH160	16.7	ND	18.5
	JaTAn1/75	14.2	ND	16.1
	JaTAn1/90	14.4	ND	19.0
GV (E)	Muar	ND	ND	ND
	rJEV-E ^{XZ0934} -M41	ND	ND	ND

*この増幅部位で、GVにも合わせることは配列的に困難 (6 x 10² – 4 x 10⁴ pfu/reaction)

GV JEV特異的TaqManプローブの設計

(新たな増幅部位を探索)

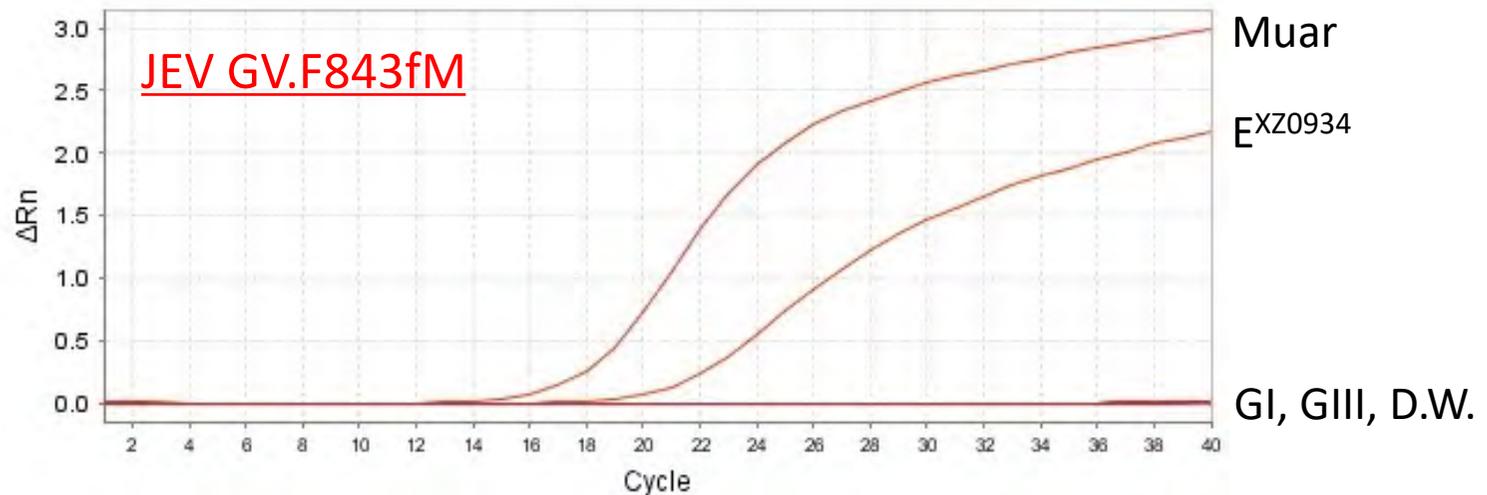


FAM--TTC TGG YCA CCT CA--NFQ-MGB

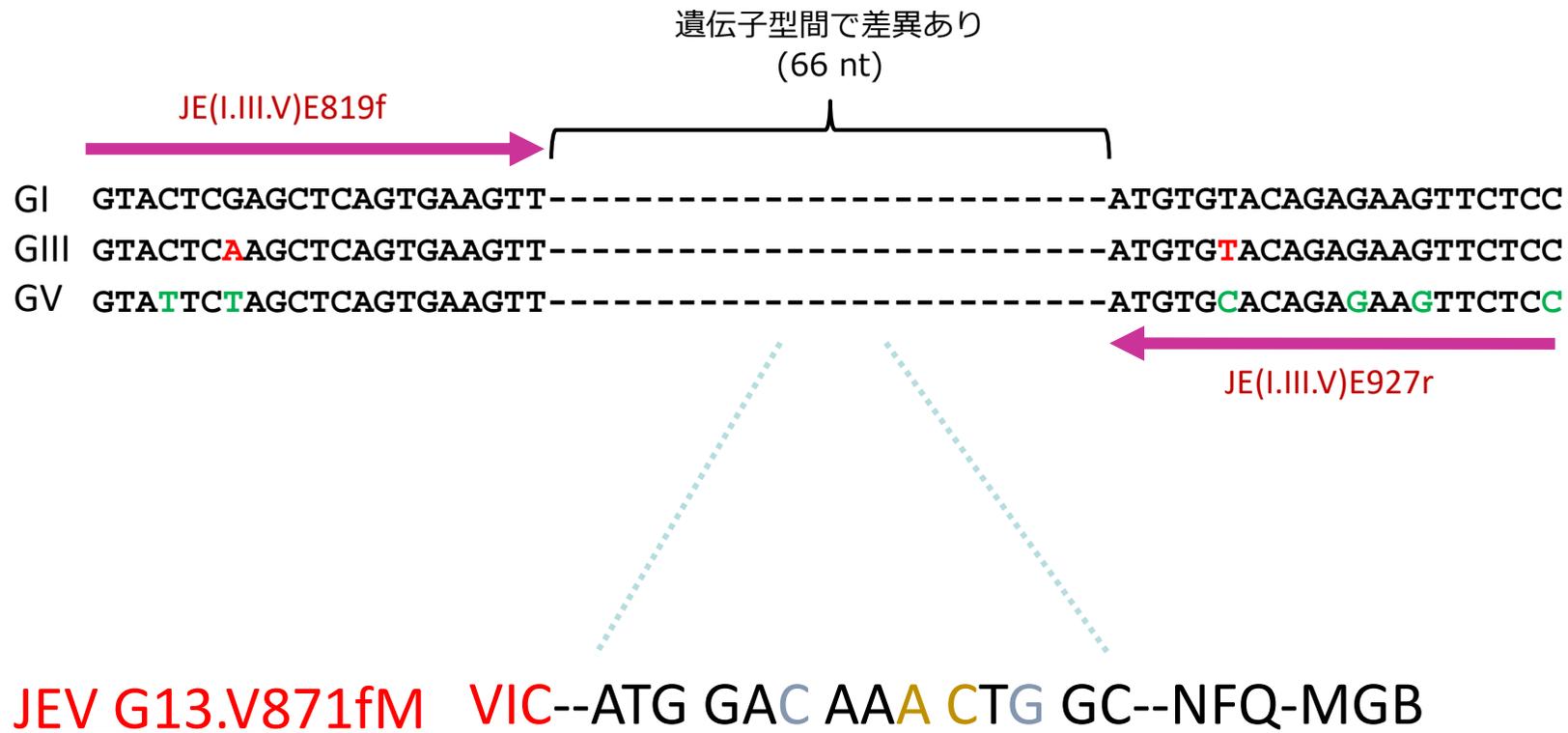
JEV GV.F843fM

GV JEV特異的TaqManプローブによるJEVゲノム検出

		Ct value
GI	Hiroshima/46/1998	ND
	Mie/41/2002	ND
	Mie/51/2005	ND
GIII	JaTH160	ND
	JaTAn1/75	ND
	JaTAn1/90	ND
GV (E)	Muar	17.8
	rJEV-EXZ0934-M41	22.0



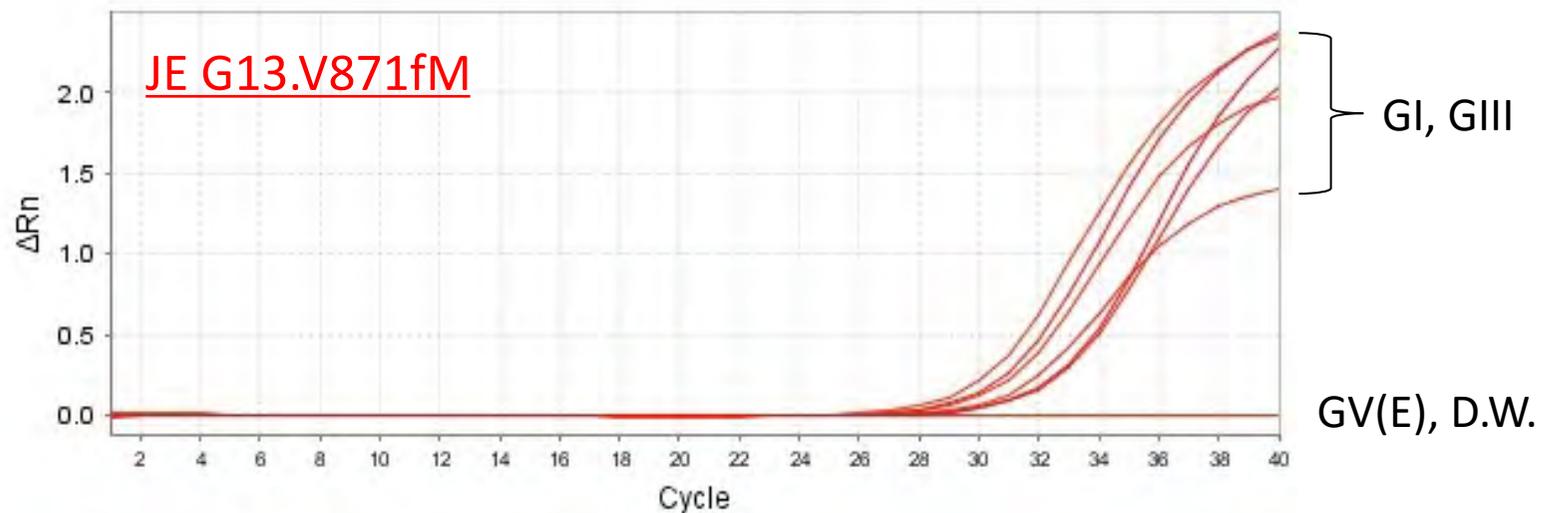
GI, GIII JEV特異的TaqManプローブの設計 (2)



GI, GIII JEV特異的TaqManプローブによるJEVゲノム検出(2)

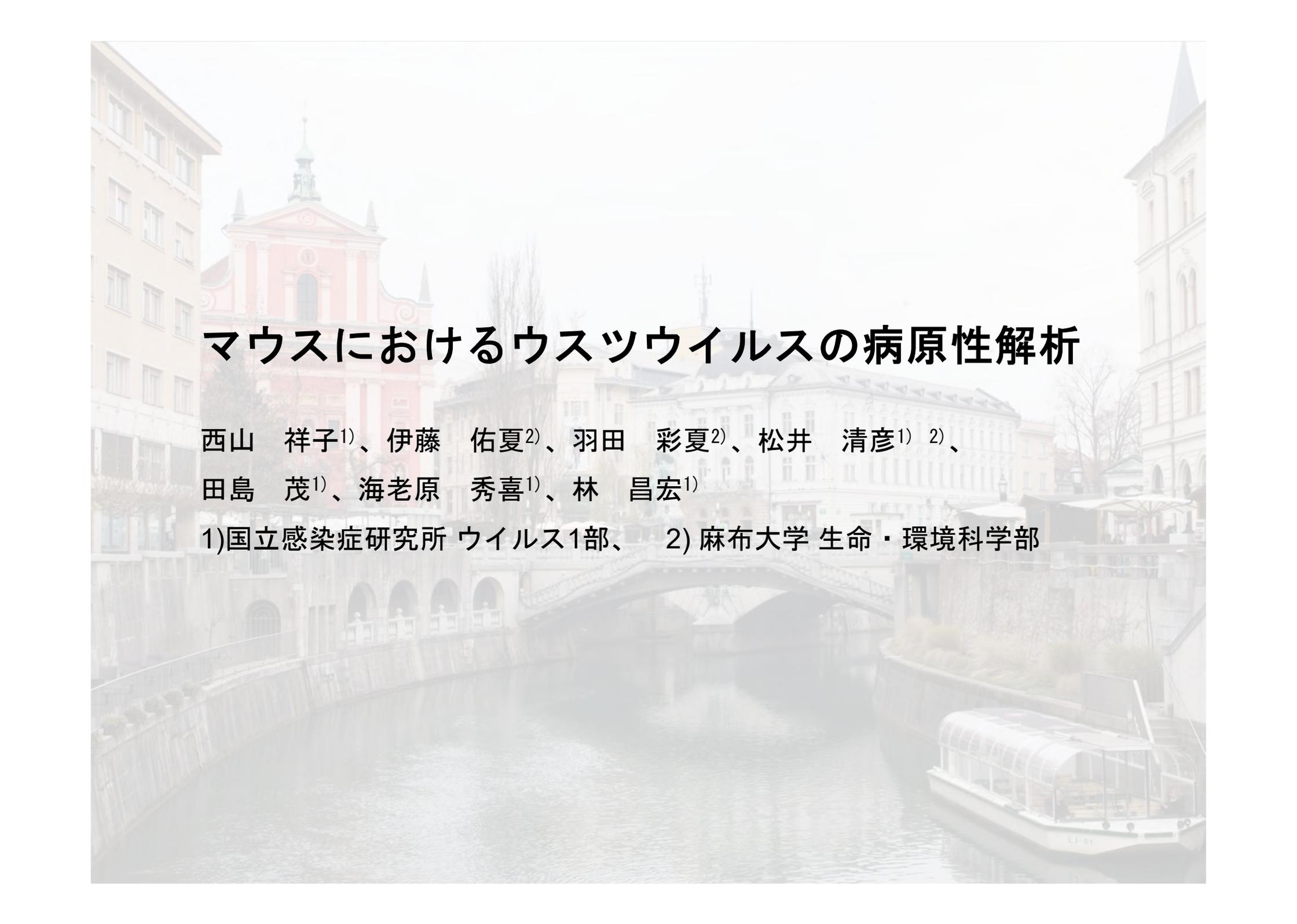
感度低い
要改善

		Ct value
GI	Hiroshima/46/1998	32.6
	Mie/41/2002	30.8
	Mie/51/2005	32.6
GIII	JaTH160	31.9
	JaTAn1/75	31.1
	JaTAn1/90	30.2
GV (E)	Muar	ND
	rJEV-E ^{XZ0934} -M41	ND



アルボウイルス感染症レファレンスセンターネットワークの強化

- 衛衛生微生物技術協議会・第43回研究会アルボウイルスレファレンスセンター等関連会議をオンラインにて2023年12月に開催し情報共有を実施した
- ContAmplicon挿入陽性コントロール、プローブについてその配布方法について検討した



マウスにおけるウスツウウイルスの病原性解析

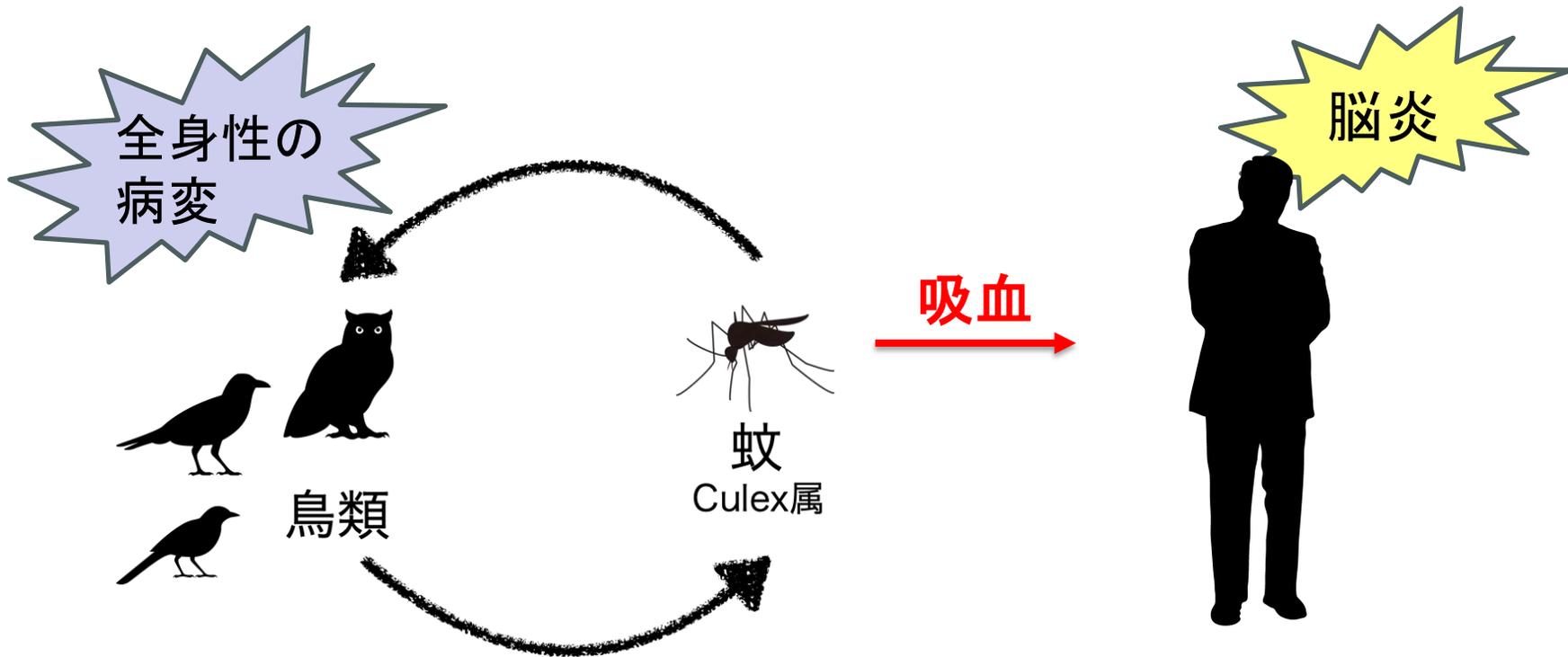
西山 祥子¹⁾、伊藤 佑夏²⁾、羽田 彩夏²⁾、松井 清彦^{1) 2)}、
田島 茂¹⁾、海老原 秀喜¹⁾、林 昌宏¹⁾

1) 国立感染症研究所 ウイルス1部、 2) 麻布大学 生命・環境科学部

ウスツウイルスとは

フラビウイルス科フラビウイルス属

日本脳炎血清型群



ウスツウイルスの疫学



複数の遺伝子型
に分かれる。

ヨーロッパ全土へ

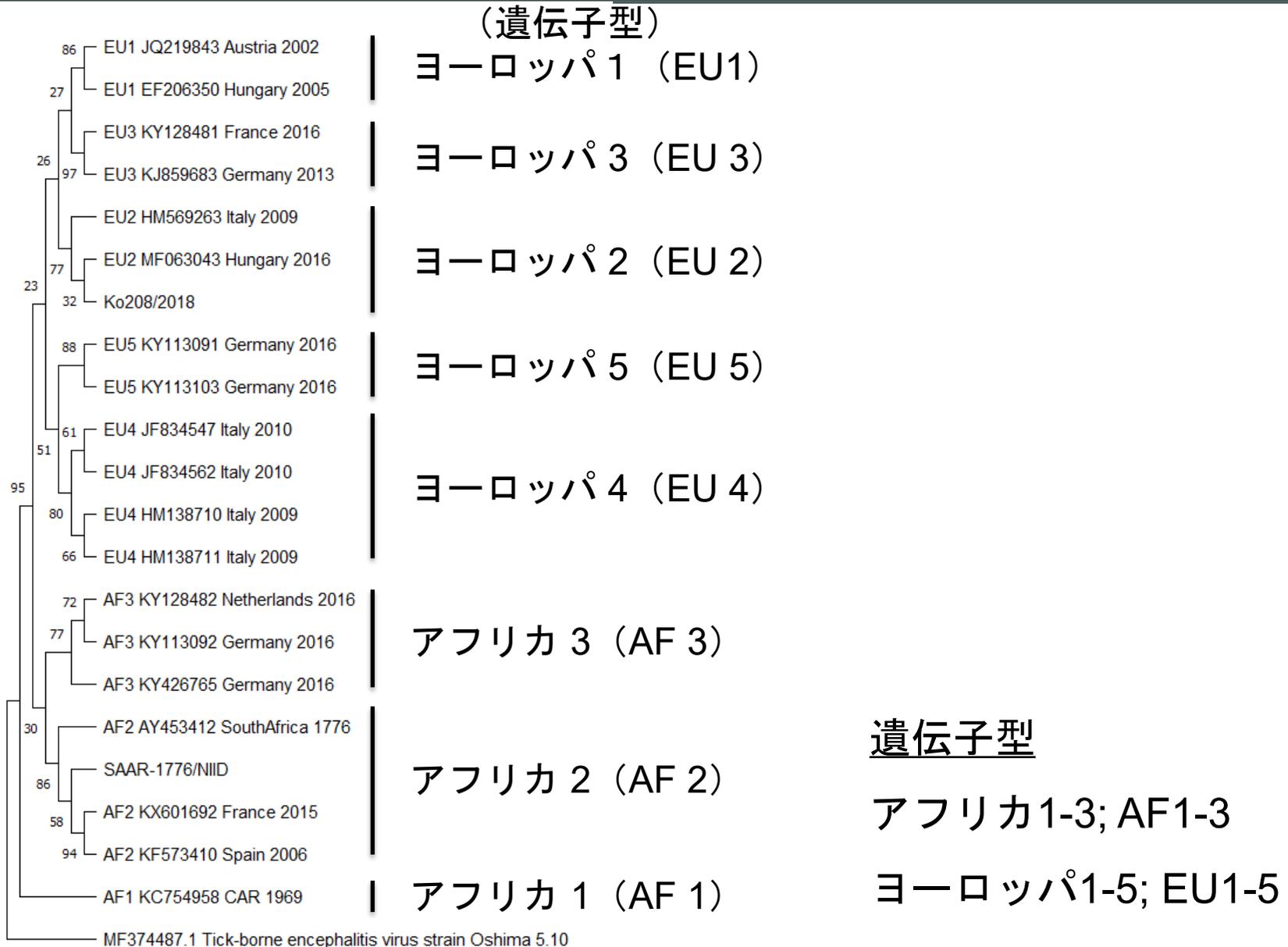


アフリカ各地へ



1959年南アフリカ

NS5の部分配列による系統樹



ヒトでの急性ウスツウイルス感染症

国名	症状	年齢	持病	Genotype
オーストリア	髄膜炎	81	高血圧、片側不全麻痺	EU2
クロアチア	髄膜脳炎	29	なし	Unknown
		62	なし	Unknown
		56	高血圧症、冠動脈疾患、糖尿病	Unknown
	神経浸潤性疾患	25	なし	EU2
		84	なし	EU2
		60	免疫不全、慢性リンパ性白血病	EU2
チェコ	髄膜脳炎	46	なし	Unknown
フランス	顔面麻痺	39	なし	AF2
イタリア	髄膜炎	40	なし	EU2
	髄膜脳炎	60	免疫不全、B細胞リンパ腫	EU1
		40	慢性の肝臓病	Unknown
	脳炎	40	免疫不全、肝臓移植	Unknown
		54	多発性神経炎、高血圧	Unknown
		60	高血圧、糖尿病	Unknown
		67	大動脈弁閉鎖不全症	Unknown

EU2型のウスツウイルスは哺乳類病原性が高い？

8. エンテロウイルス

令和6年度 エンテロウイルスレファレンスセンター会議議事録

日時:2024年5月21日(火)

場所:Zoom開催

参加者:

エンテロウイルスレファレンスセンターブロック代表者(順不同 敬称略)

北川 和寛 福島県衛生研究所(北海道東北新潟)

佐野 貴子 神奈川県衛生研究所(関東甲信静)

廣瀬 絵美 愛知県衛生研究所(東海北陸)

中田 恵子 大阪健康安全基盤研究所(近畿)

河瀬 曜 愛媛県衛生環境研究所(中国四国)

古谷 貴志 福岡県保健環境研究所(九州)

国立感染症研究所ウイルス第二部

有田 峰太郎

西村 順裕

喜多村 晃一

会議の概要

議題1: ポリオウイルス取扱い管理状況について

総括1: 有田から、世界のポリオ流行状況、国内外のポリオ管理状況について概要説明があった。

議題2: パレコウイルスの標準品等の共有について

総括2: エンテロウイルスレファレンスセンターにおいてパレコウイルスのレファレンス活動(各ブロック内でのマニュアル問い合わせ対応、標準品の共有)を行うことを確認した。

議題3: 病原体検査マニュアル作成の進め方について

総括3: エンテロウイルスに関連するマニュアル(手足口病・ヘルパンギーナ・無菌性髄膜炎)の改訂について、エンテロレファレンスセンターを介してブロック内の意見(新規に開発・評価された検査技術に関するもの)が滞りなく反映されるべきである。

議題4: エンテロウイルス検出法開発の進め方について

総括4: エンテロウイルス検出方法の開発について、国内の研究体制に関する意向を確認した。

議題5: エンテロウイルス流行状況の情報共有

総括5: コクサッキーウイルスCVA6の培養細胞による分離がされにくい傾向にあることが複数のブロックで確認された。最近のウイルス株の性状に基づく傾向なのか、今後注視が必要である。

9. ノロウイルス

衛生微生物技術協議会第44回研究会

ノロウイルス（下痢症ウイルス）
レファレンスセンター会議

世話人：染谷 雄一

国立感染症研究所 ウイルス第二部

令和6（2024）年 7月10日（月） 11:00～

於 タワーホール船堀



地方衛生研究所担当者の皆さま

- 日頃よりノロウイルス（下痢症ウイルス）レファレンスセンター活動にご協力頂き、ありがとうございます。
- ノロウイルスレファレンスセンター地区担当者変更の際は、ウイルス第二部 染谷（someya@niid.go.jp）までご一報をお願いします。
- 新型コロナウイルス感染症の流行に伴い、下痢症ウイルスの流行が抑えられています。これにより、下痢症ウイルス感染症に対して免疫力のない、あるいは、低下した人たちが蓄積されていると考えられますので、今後大流行の発生が懸念されます。継続的な注意喚起が必要と考えます。

メーリングリスト novrefctr@nih.go.jp について

- 各下痢症ウイルス担当者を含む感染研職員メーリングリスト
ウイルス第二部 染谷 雄一、岡 智一郎、藤井 克樹、林 豪士
感染症危機管理研究センター 岡本 貴世子、村上 耕介
 - サポウイルス、ロタウイルス検査用標準プラスミド（陽性コントロール）の請求にご使用ください
 - 下痢症ウイルス検査法に関するご意見やご要望を承ります
- ★ @nih.go.jp です。感染研職員等の個人のアドレス (@niid.go.jp) とは異なりますので、ご注意ください。

話題提供

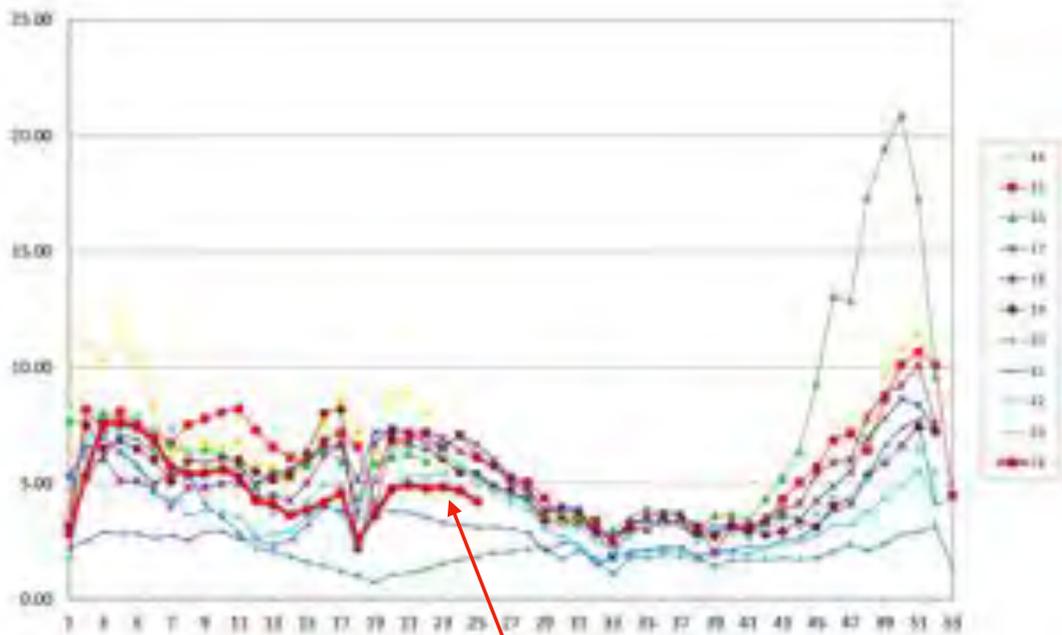
- 下痢症ウイルスの流行状況について（感染研 染谷）
- ロタウイルス検出マニュアルの改訂、RNA標準品配布開始について（感染研 藤井）

下痢症ウイルスの流行状況について

感染性胃腸炎～感染症発生動向調査 週報

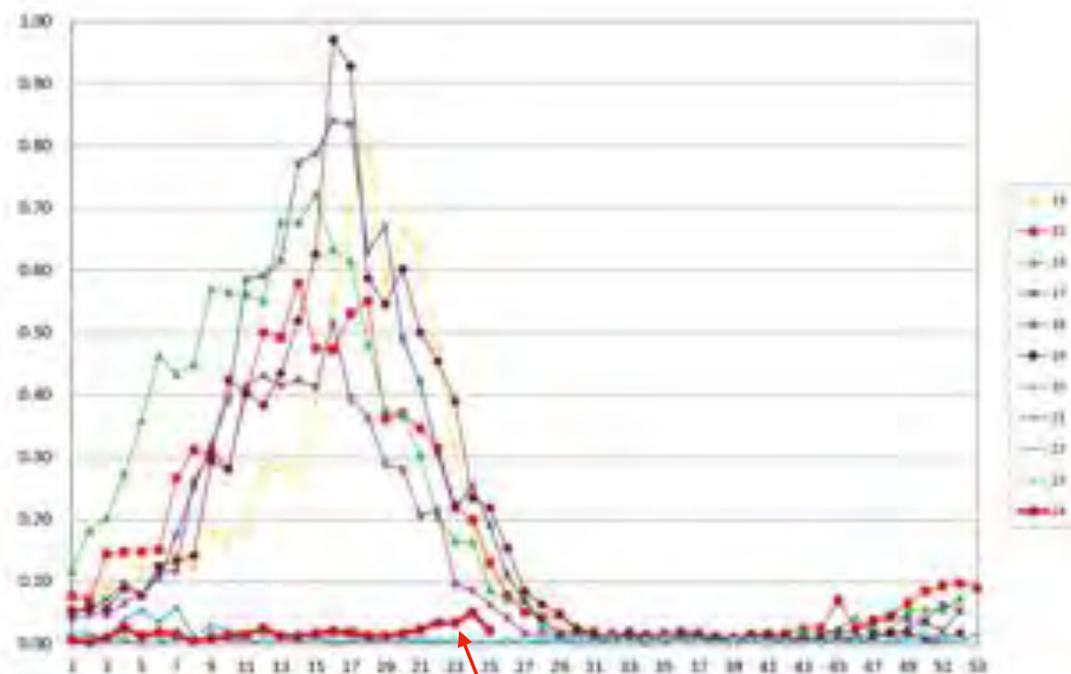
Data from Infectious Diseases Weekly Report (IDWR)

感染性胃腸炎
Infectious gastroenteritis



2024年

感染性胃腸炎（病原体がロタウイルスであるものに限る）
Infectious gastroenteritis (only by Rotavirus)



2024年



Genogroup I ノロウイルスの検出状況

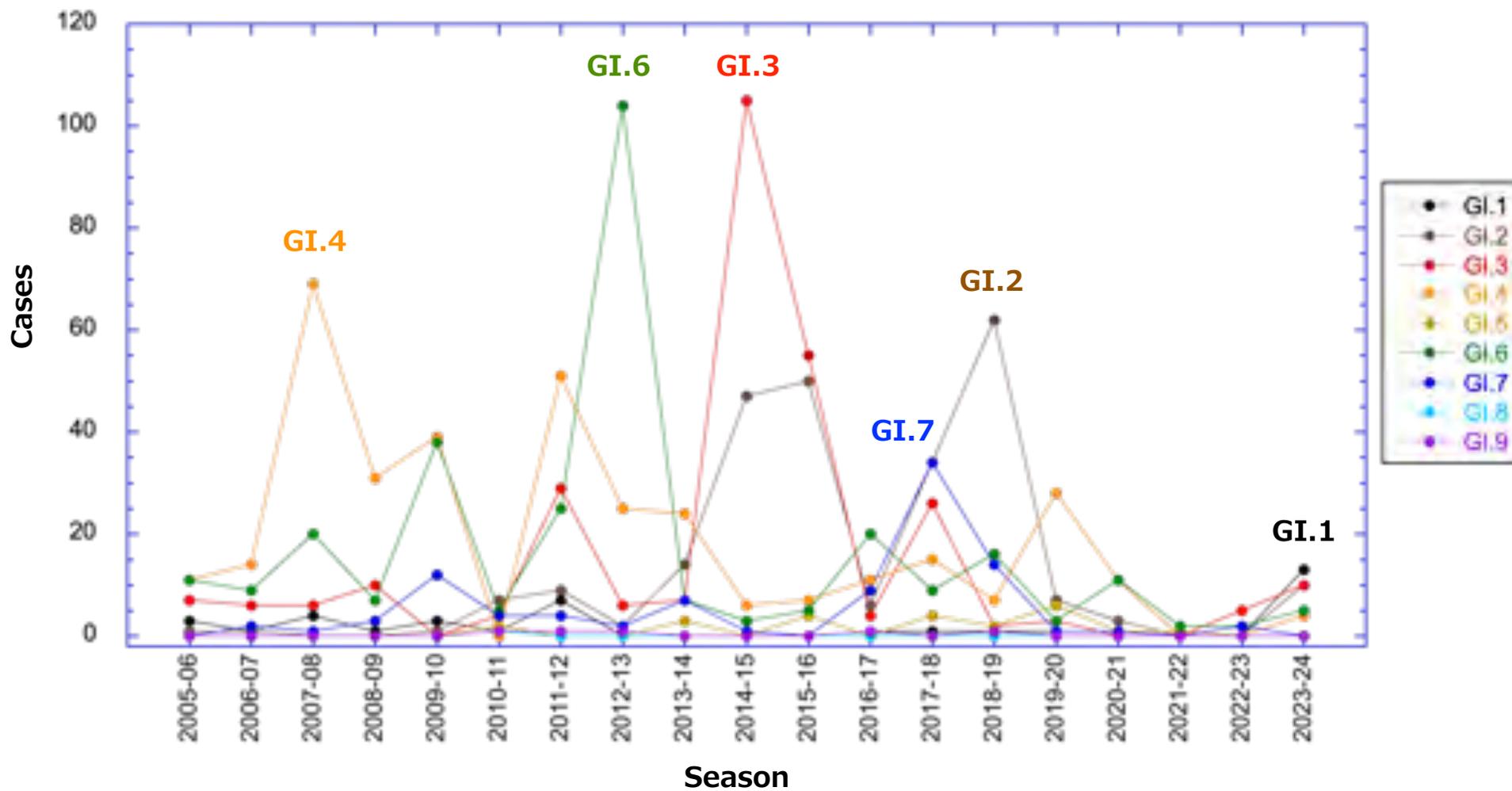
Genotype	2004-2005	2005-2006	2006-2007	2007-2008	2008-2009	2009-2010	2010-2011	2011-2012	2012-2013	2013-2014	2014-2015	2015-2016	2016-2017	2017-2018	2018-2019	2019-2020	2020-2021	2021-2022	2022-2023	2023-2024	合計
GI.1	-	3	1	4	1	3	1	7	-	-	-	-	1	1	1	1	1	1	-	13	39
GI.2	-	1	1	-	-	1	7	9	2	14	47	50	6	34	62	7	3	-	-	10	254
GI.3	1	7	6	6	10	-	4	29	6	7	105	55	4	26	2	3	-	-	5	10	286
GI.4	-	11	14	69	31	39	-	51	25	24	6	7	11	15	7	28	11	-	-	4	353
GI.5	-	-	-	-	-	-	2	-	-	3	-	4	-	4	2	6	1	1	-	-	23
GI.6	-	11	9	20	7	38	5	25	104	7	3	5	20	9	16	3	11	2	3	6	304
GI.7	-	-	2	1	3	12	4	4	2	7	1	-	9	34	14	1	1	-	2	-	97
GI.8	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
GI.9	-	-	-	-	-	-	1	1	1	-	-	-	1	-	1	-	-	-	-	-	5
Untyped GI	228	199	81	184	130	185	57	155	137	106	384	76	75	29	80	18	10	14	6	56	2210
Total	229	232	114	284	182	278	82	281	277	168	546	197	127	152	185	67	38	18	16	99	3572

シーズン：9月～翌年8月

2024年（令和6年）7月 5日現在

国立感染症研究所 病原体検出情報（IASR）<http://www.nih.go.jp/niid/ja/iasr-noro.html> 掲載のデータを一部改変
 地方衛生研究所からNESID病原体検出情報に報告された情報に基づく。
 感染症発生動向調査の定点およびその他の医療機関、保健所等で採取された検体から検出された病原体の情報が含まれる。

Genogroup I ノロウイルスの検出状況



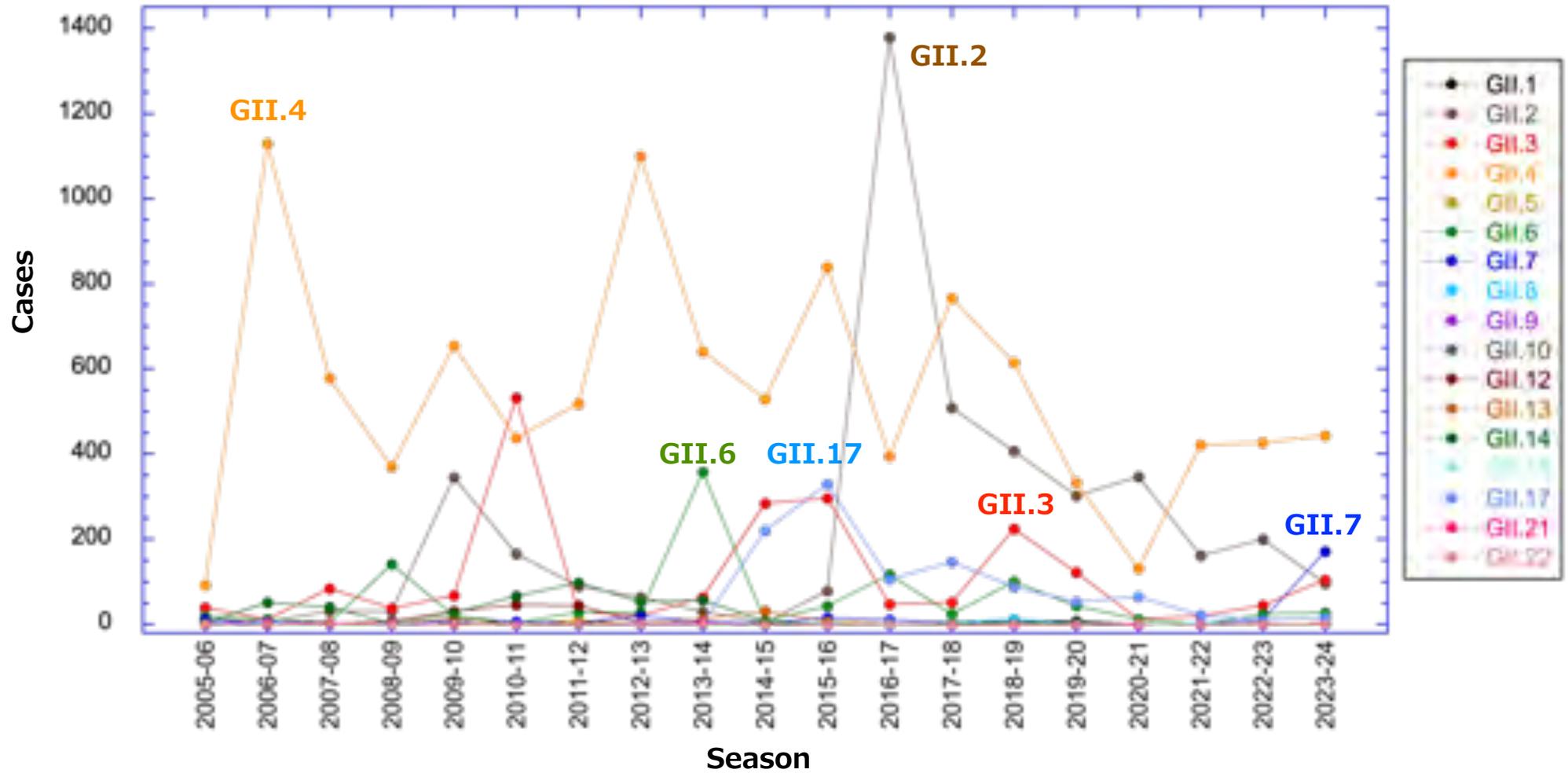
Genogroup II ノロウイルスの検出状況

Genotype	2004-2005	2005-2006	2006-2007	2007-2008	2008-2009	2009-2010	2010-2011	2011-2012	2012-2013	2013-2014	2014-2015	2015-2016	2016-2017	2017-2018	2018-2019	2019-2020	2020-2021	2021-2022	2022-2023	2023-2024	合計
GII.1	-	4	-	2	-	2	-	1	1	1	-	1	-	1	5	7	-	-	-	-	25
GII.2	1	10	5	30	30	345	165	89	63	29	3	78	1378	508	406	301	347	161	200	96	4245
GII.3	1	39	12	83	37	67	531	29	20	63	283	295	47	50	224	122	12	19	44	103	2081
GII.4	7	91	1129	577	369	654	437	517	1099	641	528	839	393	765	614	333	131	421	427	443	10415
GII.5	-	-	-	1	-	-	-	9	-	-	2	1	2	2	-	-	-	-	-	-	17
GII.6	2	18	11	3	141	19	4	27	27	357	8	43	116	24	100	42	11	-	24	26	1003
GII.7	-	11	-	1	-	10	5	4	19	5	1	15	9	4	2	-	-	-	20	171	277
GII.8	-	2	1	-	-	-	-	-	-	-	3	1	-	3	11	1	-	1	-	-	23
GII.9	-	-	5	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6
GII.10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	-	-	-	-	4
GII.12	-	-	-	-	8	31	45	44	4	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	2	136
GII.13	-	-	-	-	-	14	-	3	3	12	30	6	1	2	-	1	-	-	1	-	73
GII.14	-	1	50	40	1	26	66	97	53	56	7	-	-	1	2	2	-	-	-	-	402
GII.16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1
GII.17	-	-	-	-	1	-	-	-	2	4	220	329	106	146	87	53	65	21	9	15	1058
GII.21	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
GII.22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1
Untyped GII	1988	2492	3289	1953	1767	1776	1936	1645	2013	2015	1581	1059	1205	885	942	404	348	352	358	489	28497
Total	1999	2668	4502	2692	2354	2944	3189	2465	3304	3184	2668	2667	3258	2391	2393	1270	915	975	1083	1345	48266

シーズン：9月～翌年8月

国立感染症研究所 病原体検出情報 (IASR) <http://www.nih.go.jp/niid/ja/iasr-noro.html> 掲載のデータを一部改変

Genogroup II ノロウイルスの検出状況



英国での下痢症ウイルス流行状況

Figure 1. Norovirus laboratory reports in England by week during the 2023/2024 season, compared with 5-season average

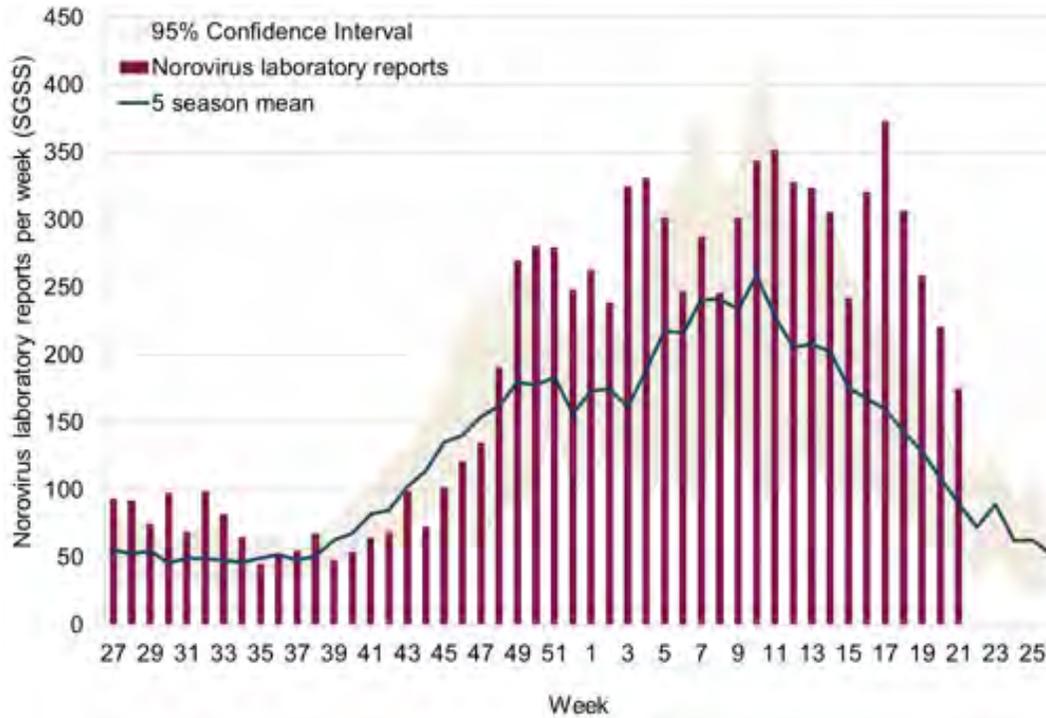
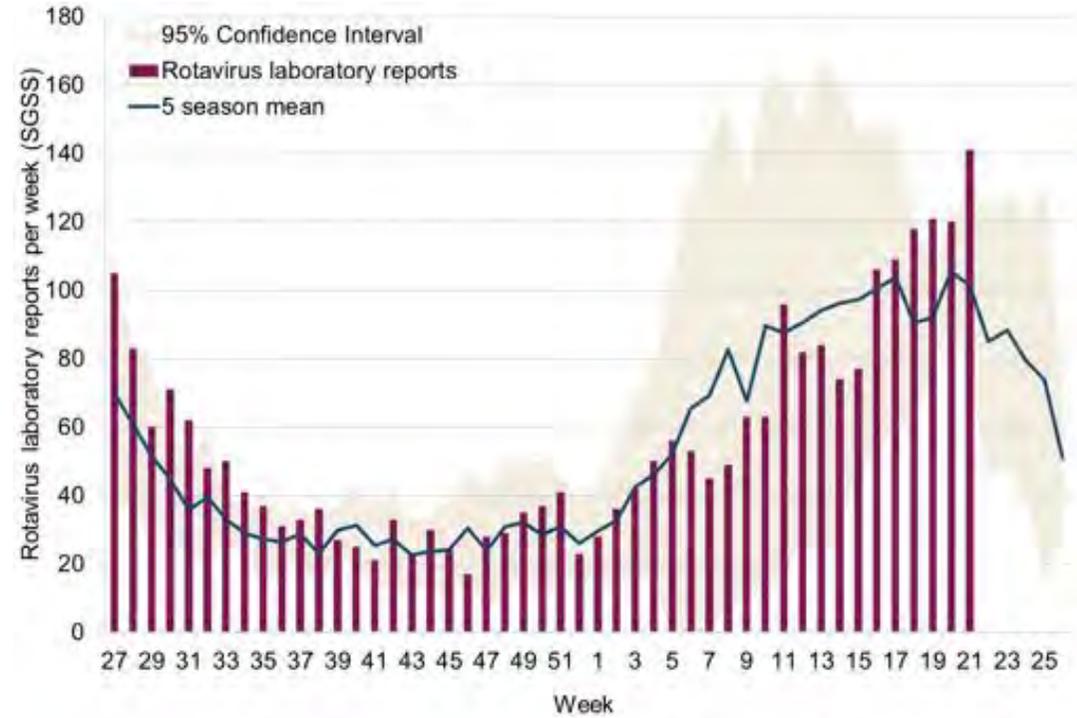
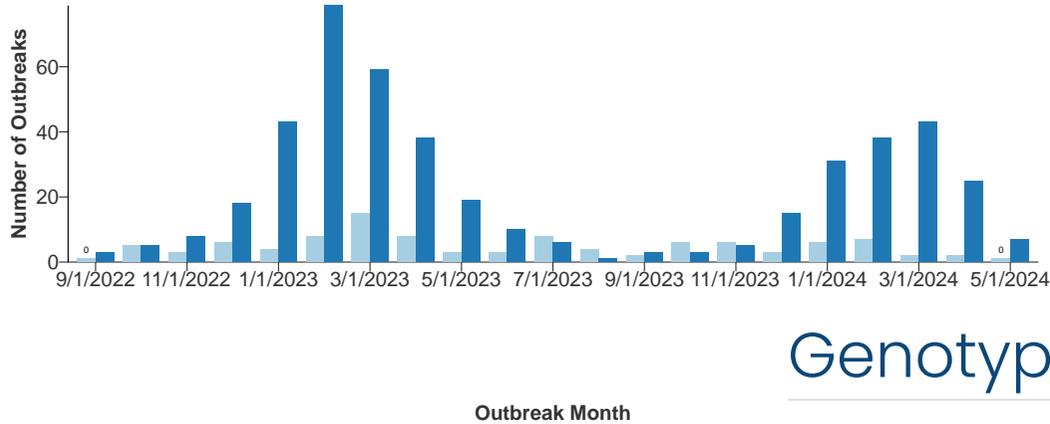


Figure 2. Rotavirus laboratory reports in England by week during the 2023/2024 seasons, compared with the 5-season average



Confirmed norovirus outbreaks submitted by genogroup

September 1, 2022 – May 31, 2024

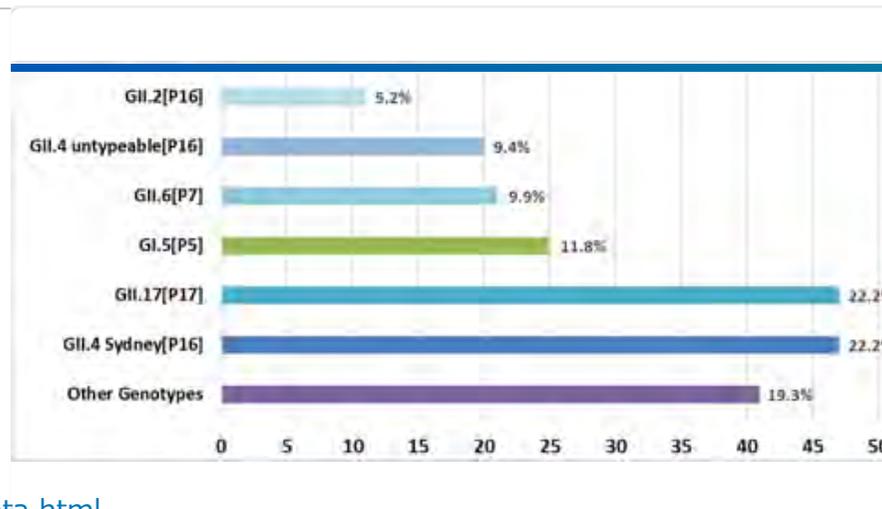


米国でのノロウイルス流行状況

Genotype distribution of norovirus outbreaks

September 1, 2023 – May 31, 2024 (n=204)

● Norovirus GI ● Norovirus GII



<https://www.cdc.gov/norovirus/php/reporting/calicinet-data.html>

病原体検出マニュアル ロタウイルス(第3版)

NIID 国立感染症研究所
NATIONAL INSTITUTE OF INFECTIOUS DISEASES

ホーム 研究所の概要 所長挨拶 アクセス 関連リンク お問い合わせ メンテナンス 記事一覧

日本語 ENGLISH

病原体検出マニュアル

【目次印刷】

2012-01-16 - 病原体検出マニュアルの目次に関する手続について

2016-08-01 - 衛生微生物学協会第37回研究会(広島) レファレンスセンター報告

2015-08-03 - 衛生微生物学協会第36回研究会(福岡) レファレンスセンター報告

2014-07-07 - 衛生微生物学協会第35回研究会(東京) レファレンスセンター報告

2014-12-22 - 便抽出液からポリオウイルスを直接検出するための、カプシドコーティング全領域の高効率増殖法の開発

お知らせ

- 採用情報
- 募集情報
- 情報公開
- 公開講座・研修
- その他

感染症情報

- 疾患名で探す
- 感染症や特徴で探す
- 予防接種情報
- 災害と感染症
- 大規模イベントと感染症

研究・検査・病原体管理

- 研究情報
- 検定検査情報
- 病原体検査

更新情報

2024.05.20 5類感染症 「**感染性胃腸炎-ロタウイルス-**」を更新しました

2024.05.02 4類感染症 の「重症急性血小板減少症候群(病原体がフレボウイルス属SFTSウイルスであるものに限る。)」を更新しました

2024.03.28 5類感染症 の「百日咳」を更新しました

2024.03.21 5類感染症 の「薬剤耐性菌感染症」(ペニシリン耐性肺炎球菌感染症、バンコマイシン耐性腸球菌感染症、薬剤耐性緑膿菌感染症、薬剤耐性アシネトバクター感染症、カルバペネム耐性腸内細菌目細菌感染症)を更新しました

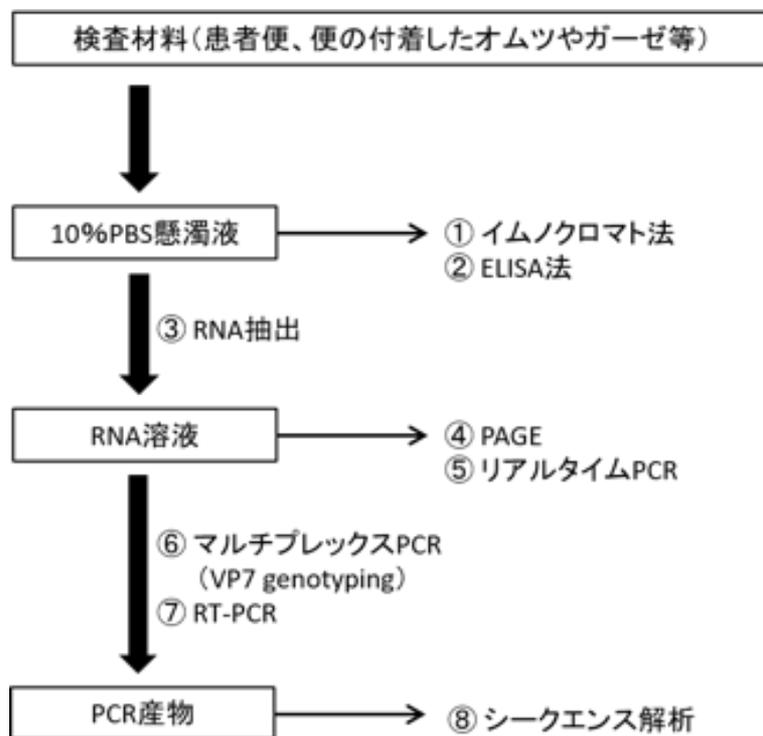
2024.03.18 5類感染症 の「メチシリン耐性黄色ブドウ球菌感染症」を更新しました

2024.03.18 5類感染症 の「バンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌感染症」を追加しました

5類感染症 定点把握

- RSウイルス感染症 2023年8月版
- 咽頭結膜熱 2023年1月版
- A群溶血性レンサ球菌咽頭炎 2024年1月版
- 感染性胃腸炎
 - ロタウイルス 2024年5月版
 - ノロウイルス 2019年6月版
 - サポウイルス 2021年7月版
 - アデノウイルス下痢症 2022年5月版
- 水痘 2011年10月版
- 手足口病 2023年7月版
- 伝染性紅斑
- 赤痢性発熱 2015年8月版
- ヘルパンギーナ 2018年2月版
- 流行性耳下腺炎 2015年1月版

変更点: ELISAによる抗原検出法を簡略化



Ⅲ-2. ELISA 法

以前はロタウイルスの ELISA キットが日本でも販売され、疫学調査におけるスクリーニング法としても広く利用されていたが、現在は日本国内では製造・販売されていないため、利用するためには高価な海外製品を入手する必要がある。現在は検査の現場で利用する機会はほとんどないと考えられるため、詳細は割愛する。

変更点:リアルタイムPCR法のプライマー・プローブを一本化

<RVA用のプライマーおよびプローブの配列>

参考文献: Journal of Medical Virology 80 (2008) 1489-1496

Target	Primer name	5'-sequence-3'	Position	Product size
NSP3	NSP3-FDeg	ACCATCTWCACRTRACCCCTC	988-1007	87
	NSP3-R1	GGTCACATAACGCCCCTATA	1055-1074	
	NSP3-Probe*	ATGAGCACAATAGTTAAAAGCTAACACTGTCAA	1009-1035	

参考文献: Journal of Virological Methods 155 (2009) 126-131

Target	Primer name	5'-sequence-3'	Position	Product size
NSP3	JVKF	CAGTGGTTGATGCTCAAGATGGA	17-39	131
	JVKR	TCATTGTAATCATATTGAATACCCA	123-147	
	JVKP*	ACAACTGCAGCTTCAAAGAAGWGT	72-96	

➤ 検出可能な遺伝子型の範囲が狭いため、マニュアルから削除。

- RVCのプライマー・プローブを新たに追加。

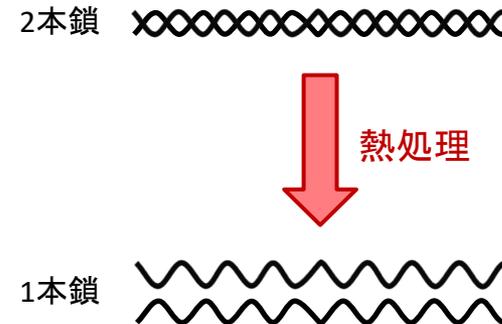
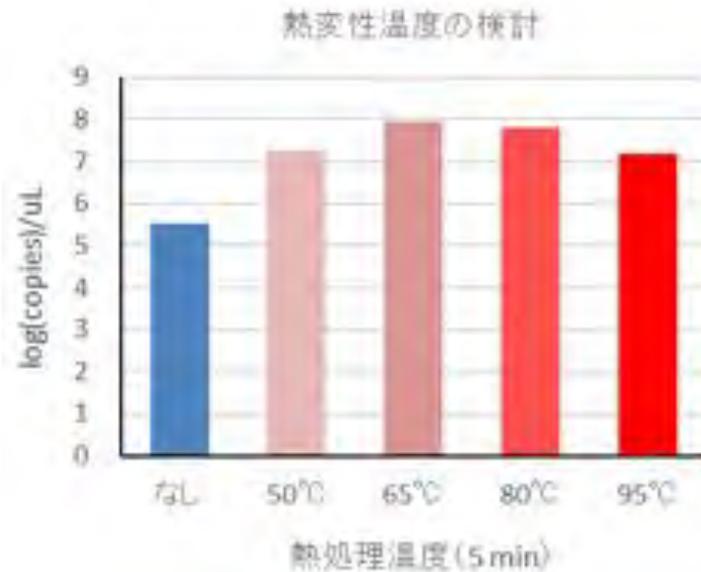
<RVCの検出に用いるプライマー・プローブの配列>

Target	Primer name	5'-sequence-3'	Position	Product size
VP7	RVC-VP7-616F	GCTGCATTTGGTAGTACTGYGA	616-638	90
	RVC-VP7-705R	AGTTTCTGTACTAGCTGGTGAACA	682-705	
	RVC-VP7-649P(29)	TGTCCATTAGATACTACAAGTAATGGAAT	649-677	

変更点: 逆転写反応前の熱変性条件を変更

マニュアル第2版: 65°C、5min → 第3版: 95°C、2min

- ロタウイルスのゲノムは2本鎖RNAなので、逆転写反応前に熱変性処理を実施しないと検出感度が大幅に(2オーダー程度)低下する。



熱変性条件に対する疑問

- 昨年の本会議において、大阪健康安全基盤研究所の白井先生、左近先生から「熱変性は65°Cでは不十分で、95°Cまで上げる必要があるのではないか？」との指摘があり、改めて検証することになった。
- 使用機器、試薬等の影響を検証した結果、RNA抽出キット(溶出バッファー)の違いが熱変性に必要な温度に影響すると考えられた。

RNA抽出キット

Direct-zol RNA MiniPrep Kit (ZymoResearch)

DWで溶出

→ 65°Cで十分

QIAamp Viral RNA Mini Kit (Qiagen)

Buffer AVEで溶出

→ 95°Cでないとダメ

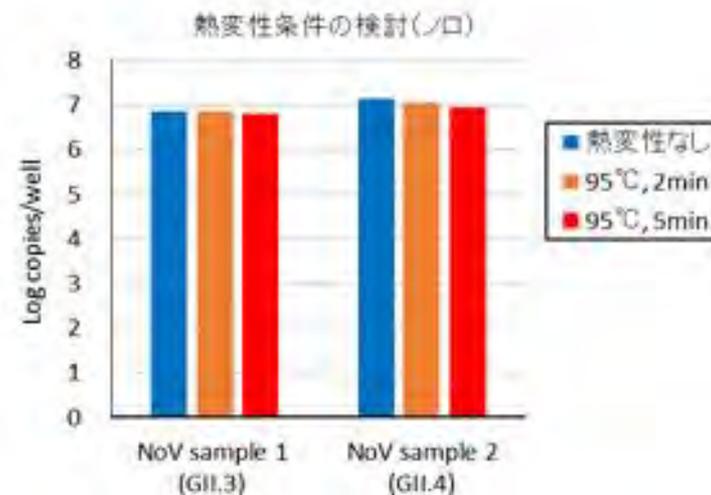
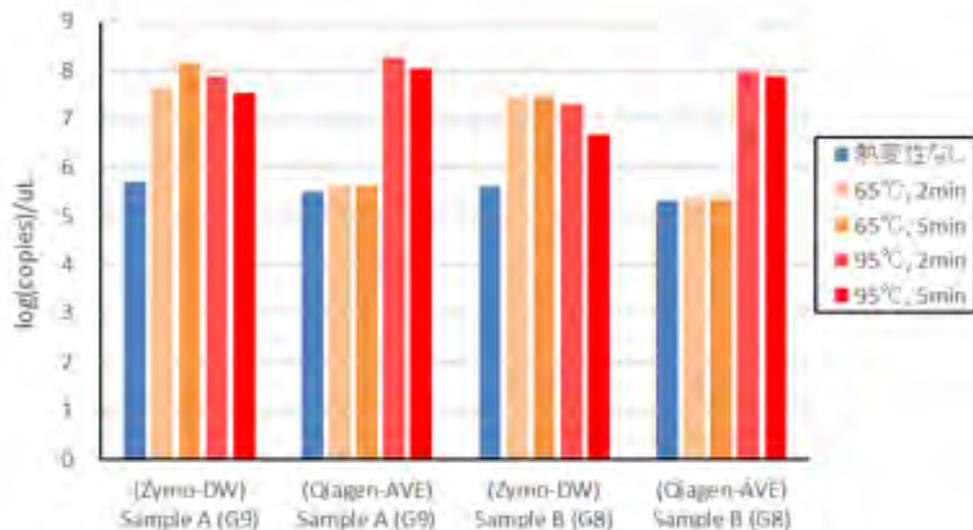


Direct-zol RNA kit (ZYMO Research)



QIAamp Viral RNA kit (QIAGEN)

熱変性条件の検討



- ロタウイルスのゲノムRNAについて、逆転写反応前に実施する熱変性処理条件は、RNA抽出キット(特に溶出バッファー)の種類に依存することが判明した(データは割愛)。
- 65°Cでは不十分なキットが存在するため、**温度は95°Cに統一**するのが妥当と考えられる。
- しかし、95°CではRNAの分解が起こるため処理時間は短い方が好ましい。
- 検証の結果(左グラフ)、Qiagenキットでも「**95°C、2 min**」で**必要十分**と考えられた。
- ノロウイルスの場合(右グラフ)でも「95°C、2 min」処理で検出感度はほとんど下がらなかった。
- 2-step法でロタ以外のウイルスを同時に検出する場合でも「95°C、2 min」で問題ないと考えられる。

ロタウイルスの陽性コントロールRNAを作製し、配布可能になりました。

Ⅲ-9. 標準品

ロタウイルスの検査に利用可能な標準品（陽性コントロール）として、国立感染症研究所では以下のものを配布している。必要に応じて下記の請求先に連絡（メール）すれば入手可能である。

- ・ RVA (NSP3) 陽性コントロール RNA：リアルタイム PCR、コンベンショナル PCR 兼用
- ・ RVA (NSP3) 陽性コントロール DNA：リアルタイム PCR、コンベンショナル PCR 兼用
- ・ RVC (VP7) 陽性コントロール DNA：リアルタイム PCR、コンベンショナル PCR 兼用

内容

- RVA (NSP3) 陽性コントロールRNA: NSP3遺伝子の一部で構成されるssRNA。
- RVA (NSP3) 陽性コントロールDNA: NSP3遺伝子の全長を含むプラスミドDNA。
- RVC (VP7) 陽性コントロールDNA: VP7遺伝子の全長を含むプラスミドDNA。

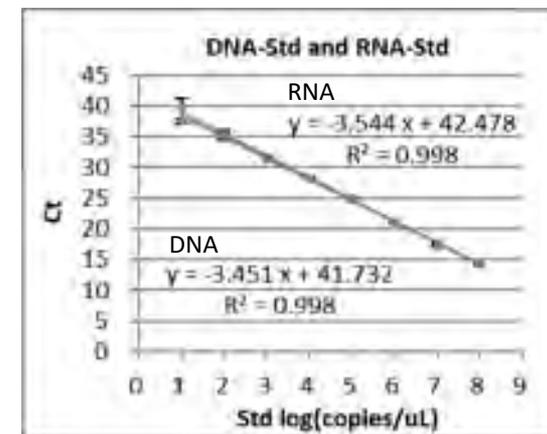
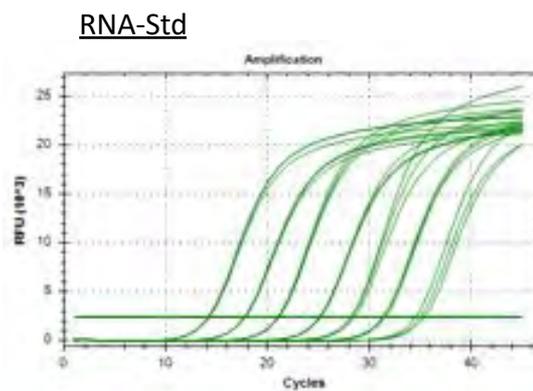
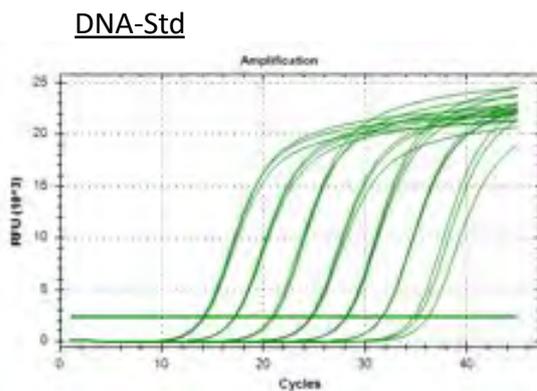
RVA (NSP3) 陽性コントロールRNA

- マニュアル記載のプライマー・プローブセットを用いるリアルタイムPCRに利用可能。

参考文献: Journal of Medical Virology 80 (2008) 1489-1496

Target	Primer name	5'- sequence -3'	Position	Product size
NSP3	NSP3-FDeg	ACCATCTWCACRTRACCCTC	988-1007	
	NSP3-R1	GGTCACATAACGCCCTATA	1055-1074	87
	NSP3-Probe	ATGAGCACAAATAGTTAAAAGCTAACACTGTCAA	1009-1035	

- 陽性コントロールRNAは、従来の陽性コントロールDNAとほぼ同等の増幅性能がある。
($10^8 \sim 10^1$ コピーの範囲で直線性が得られる)

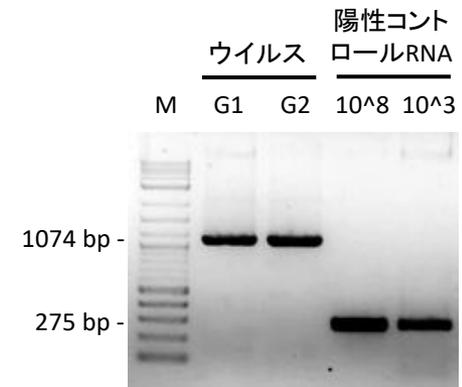


RVA (NSP3) 陽性コントロールRNA

- コンベンショナルRT-PCRの場合、NSP3遺伝子分節の全長増幅用プライマーセットを用いると275 bpの短い増幅産物が得られる。(実際のウイルスの場合は約1074 bp)

参考文献: 病原体検出マニュアル

Primer name	5'- Sequence -3'	Position	Product size (bp)
NSP3 F primer	GGCTTTTAATGCTTTTCAGTGGTTG	1-25	1074
NSP3 R primer	GGTCACATAACGCCCTATAG	1054-1074	



コントロールRNA (561塩基)



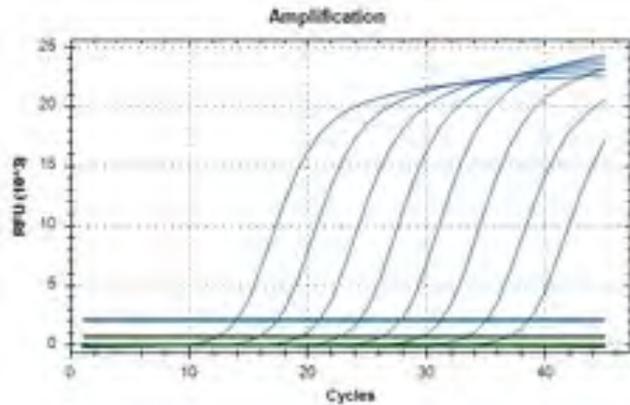
陽性コントロールRNAのコンタミ確認方法1

- ポジコンコンタミチェック用に、マーカーとして下記のPC check配列が挿入されている。

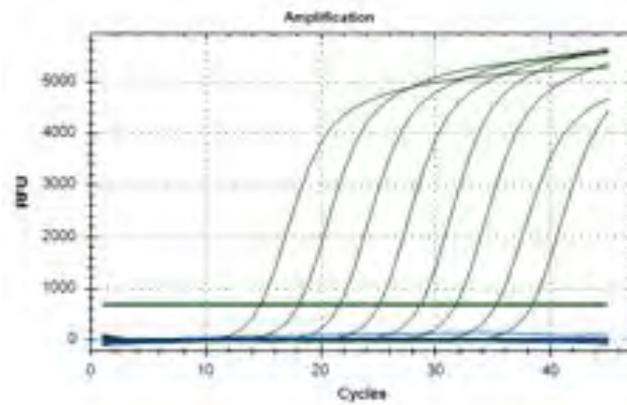
PC check配列: AGCTAGCGCATTGGATCTCG

(ノロ、インフルエンザ、MERSV、SFTSV の陽性コントロールに用いられているものと共通)

NSP3-probe



PC check-probe



コントロールRNA (561塩基)

PC check

リアルタイムPCR増幅部位

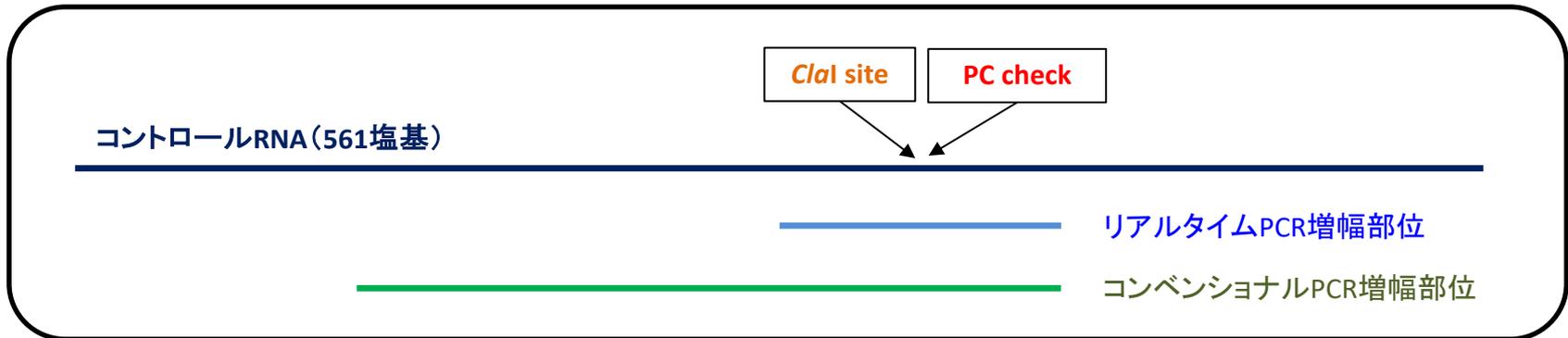
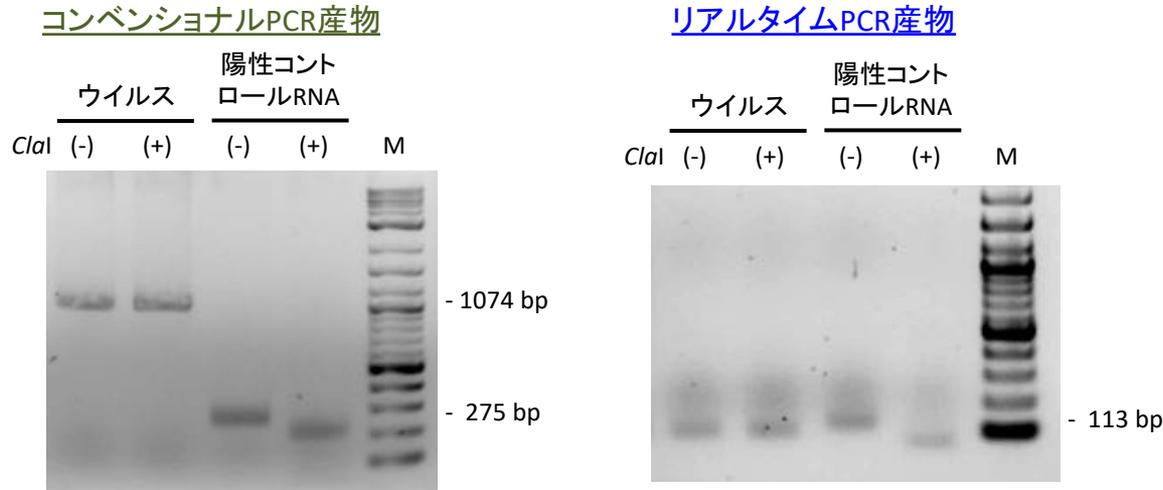
コンベンショナルPCR増幅部位

陽性コントロールRNAのコンタミ確認方法2

- 増幅配列に制限酵素 *Clal* で切断される配列が挿入されているため、*Clal* 処理により増幅産物が切断されてサイズが変わる。(これもノロと共通)

ウイルス由来PCR産物: *Clal* 処理で切断されない。

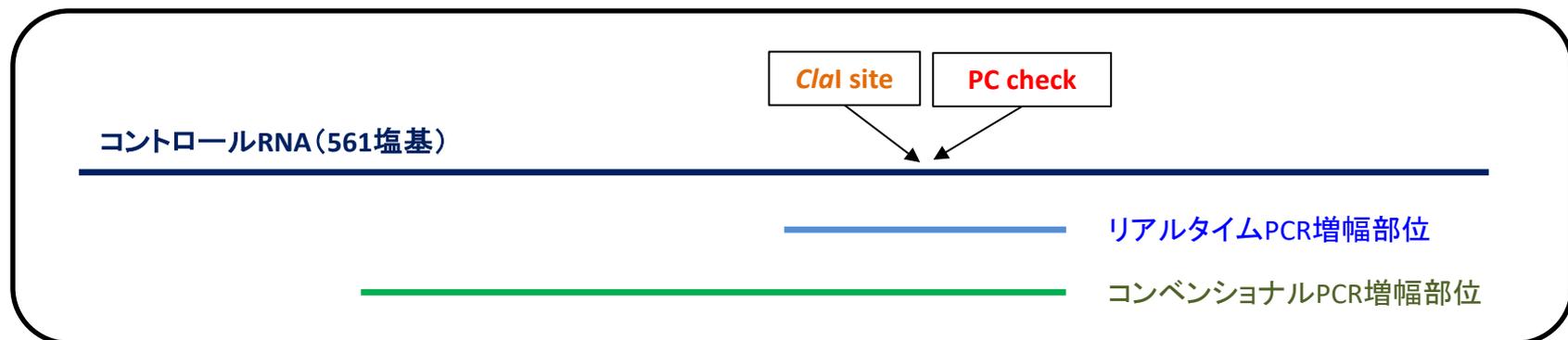
コントロール由来PCR産物: *Clal* 処理でサイズが短くなる。



陽性コントロールRNAのコンタミ確認方法 まとめ

※ RVA (NSP3) 陽性コントロールRNAのコンタミ確認方法

1. リアルタイムqPCRにおいて、コントロールRNAはPC check probeで検出可能。
2. コンベンショナルPCR (NSP3全長増幅用) で得られるPCR産物のサイズが異なる。
3. コントロールRNA由来のPCR産物は、制限酵素 *Clal*により切断される。(リアルタイム、コンベンショナルとも)



ロタウイルスの陽性コントロールをご要望の方は、こちらにご連絡ください。

■ 9. 標準品

ロタウイルスの検査に利用可能な標準品（陽性コントロール）として、国立感染症研究所では以下のものを配布している。必要に応じて下記の請求先に連絡（メール）すれば入手可能である。

- ・ RVA (NSP3) 陽性コントロール RNA：リアルタイム PCR、コンベンショナル PCR 兼用
- ・ RVA (NSP3) 陽性コントロール DNA：リアルタイム PCR、コンベンショナル PCR 兼用
- ・ RVC (VP7) 陽性コントロール DNA：リアルタイム PCR、コンベンショナル PCR 兼用

標準品請求先

ノロウイルス（下咽癌ウイルス）レファレンスセンター： novrefctr@nih.gov

- 検査方法に関して疑問等がありましたら、ぜひお知らせ下さい。可能な限り改良に努めます。

ロタウイルス担当：藤井 (fyoshiki@niid.go.jp)

令和6年7月10日(月)
ノロウイルスレファレンスセンター
タワーホール船堀 研修室

～ノロウイルス～

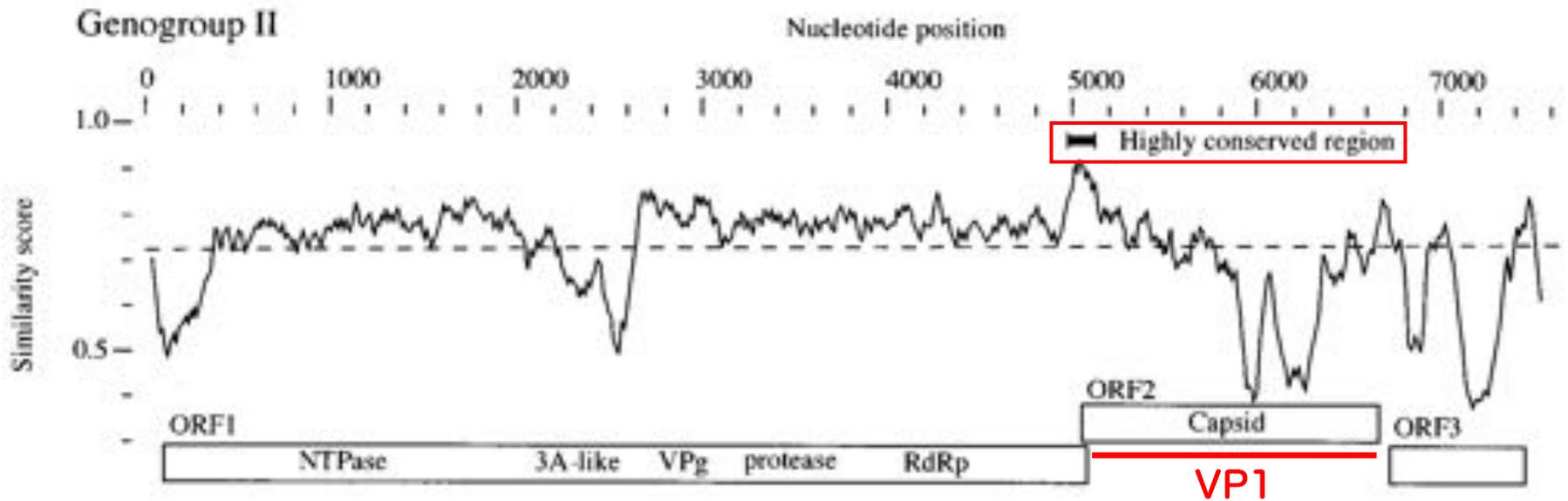
NESIDへの遺伝子型の登録方法について

国立感染症研究所
感染症危機管理研究センター
ウイルス第二部 兼任
村上耕介



再掲

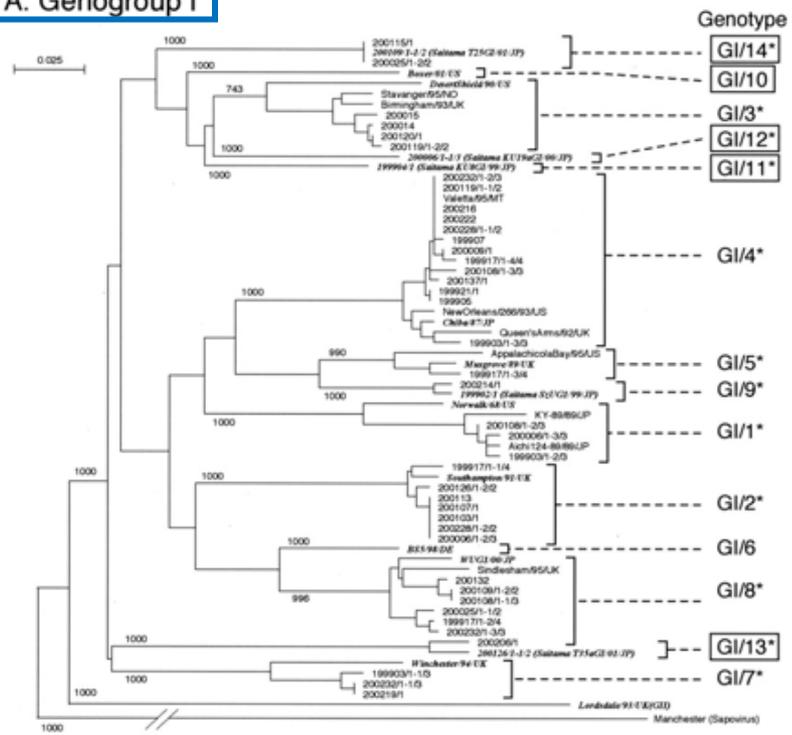
ノロウイルスの遺伝子構造と 遺伝子型内の類似度



抗原性に関するカプシド (VP1) により分類された

ヒトに感染するノロウイルスの遺伝子型

A. Genogroup I



B. Genogroup II



Kageyama et al. J. Clin. Microbiol. 2004; 42:7:2988-2995.

再掲

再掲

遺伝子型の再分類 (2013年当時)

Genogroup I

旧表記	新表記
GI/1	GI.1
GI/2	GI.2
GI/3	GI.3
GI/4	GI.4
GI/5	GI.5
GI/6	GI.6
GI/7	GI.7
GI/8	GI.5
GI/9	GI.5
GI/10	GI.8
GI/11	GI.3
GI/12	未定NA
GI/13	GI.9
GI/14	GI.3

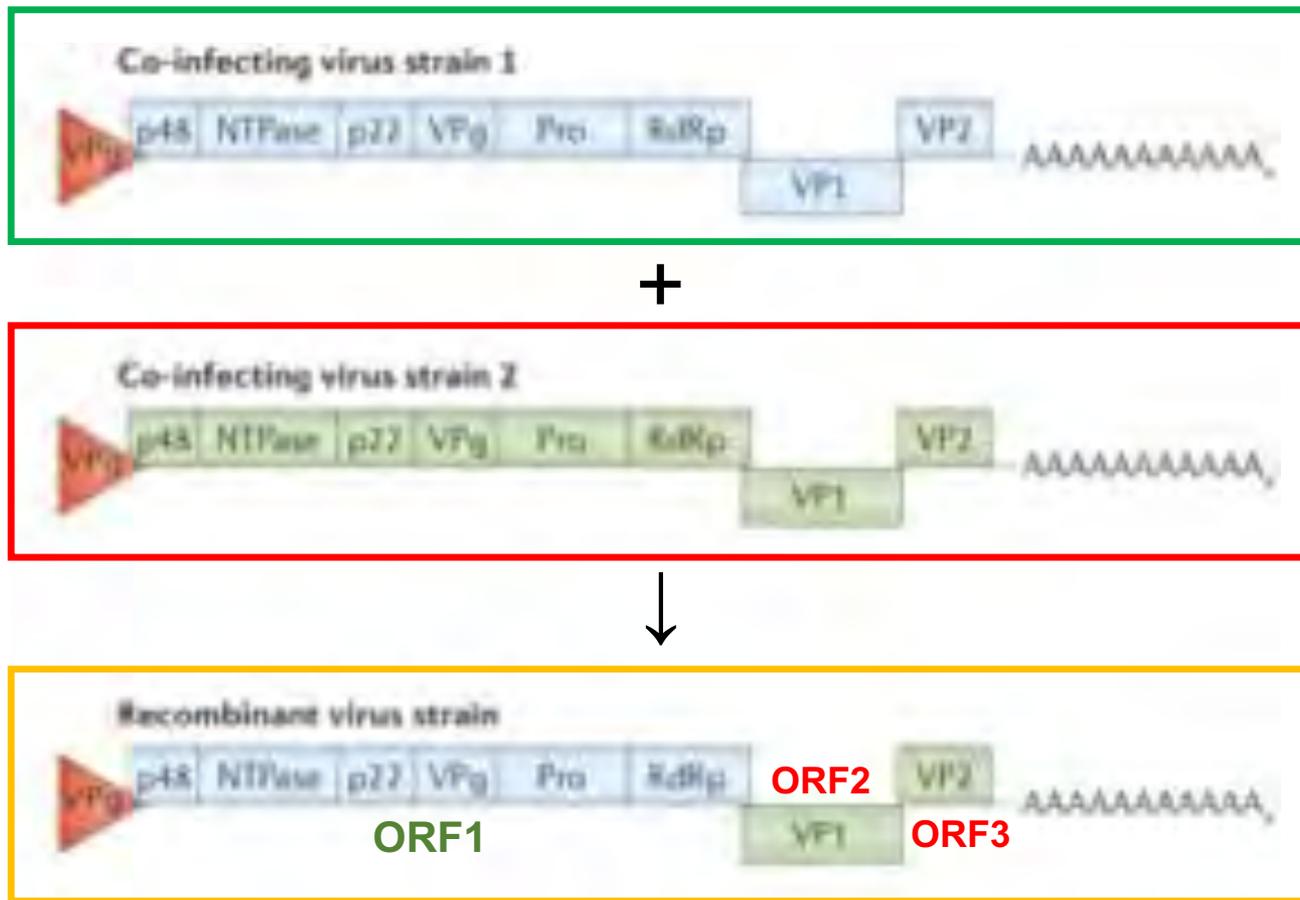
Genogroup II

旧表記	新表記
GII/1	GII.1
GII/2	GII.2
GII/3	GII.3
GII/4	GII.4
GII/5	GII.5
GII/6	GII.6
GII/7	GII.7
GII/8	GII.8
GII/9	GII.9
GII/10	GII.10
GII/11	GII.17
GII/12	GII.12
GII/13	GII.14
GII/14	GII.13
GII/15	GII.16
GII/16	GII.21
(GII/17=GIV)	-
GII/18	GII.22
GII/19	GII.15
-	GII.11
-	GII.18
-	GII.19
-	GII.20

2013年の再分類で
GII/17がGIVに変更された

再掲

リコンビナント株の登場 (発見)



ORF1とORF2-3が入れ替わっている
→ VP1だけでなくORF (RdRp)による分類も必要

新しい分類法の提案

JOURNAL OF
GENERAL VIROLOGY

RESEARCH ARTICLE

Chhabra et al., *Journal of General Virology* 2019;100:1393–1404
DOI: 10.1099/jgv.0.001318



Updated classification of norovirus genogroups and genotypes

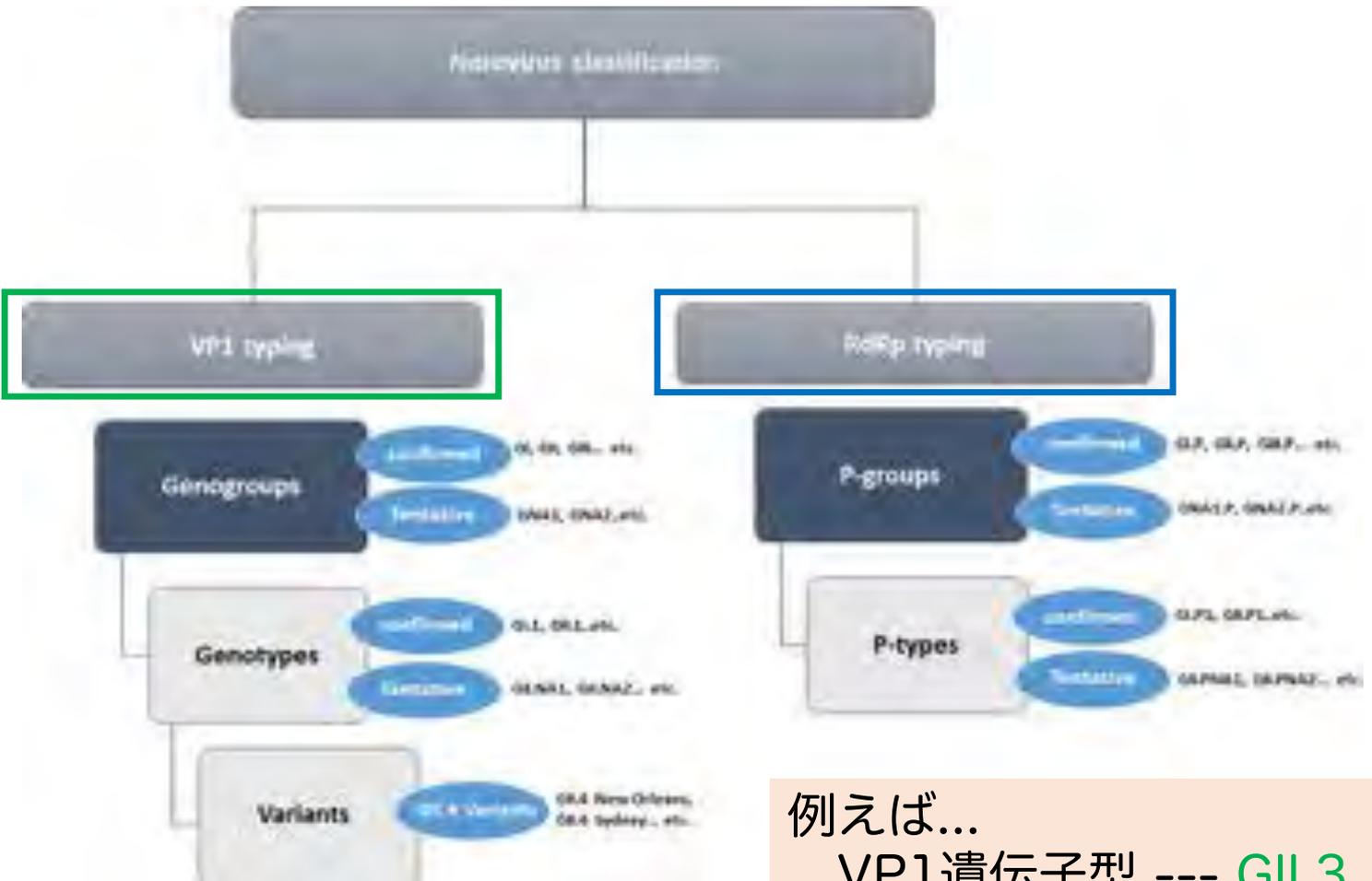
Preeti Chhabra¹*, Miranda de Graaf², Gabriel L. Parra³, Martin Chi-Wai Chan⁴, Kim Green⁵, Vito Martella⁶, Qihong Wang⁷, Peter A. White⁸, Kazuhiko Katayama⁹, Harry Vennema¹⁰, Marion P. G. Koopmans⁷ and Jan Vinje⁷

Abstract

Noroviruses are genetically diverse RNA viruses associated with acute gastroenteritis in mammalian hosts. Phylogenetically, they can be segregated into different genogroups as well as P (polymerase)-groups and further into genotypes and P-types based on amino acid diversity of the complete VP1 gene and nucleotide diversity of the RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) region of ORF1, respectively. In recent years, several new noroviruses have been reported that warrant an update of the existing classification scheme. Using previously described 2 \times standard deviation (sp) criteria to group sequences into separate clusters, we expanded the number of genogroups to 10 (GI–GX) and the number of genotypes to 49 (9 GI, 27 GII, 3 GIII, 2 GIV, 2 GV, 2 GVI and 1 genotype each for GVII, GVIII, GIX [formerly GI.15] and GX). Viruses for which currently only one sequence is available in public databases were classified into tentative new genogroups (GNA1 and GNA2) and genotypes (GII.NA1, GII.NA2 and GIV.NA1) with their definitive assignment awaiting additional related sequences. Based on nucleotide diversity in the RdRp region, noroviruses can be divided into 60 P-types (14 GI, 37 GII, 2 GIII, 1 GIV, 2 GV, 2 GVI, 1 GVII and 1 GX), 2 tentative P-groups and 14 tentative P-types. Future classification and nomenclature updates will be based on complete genome sequences and will be coordinated and disseminated by the international norovirus classification-working group.

再掲

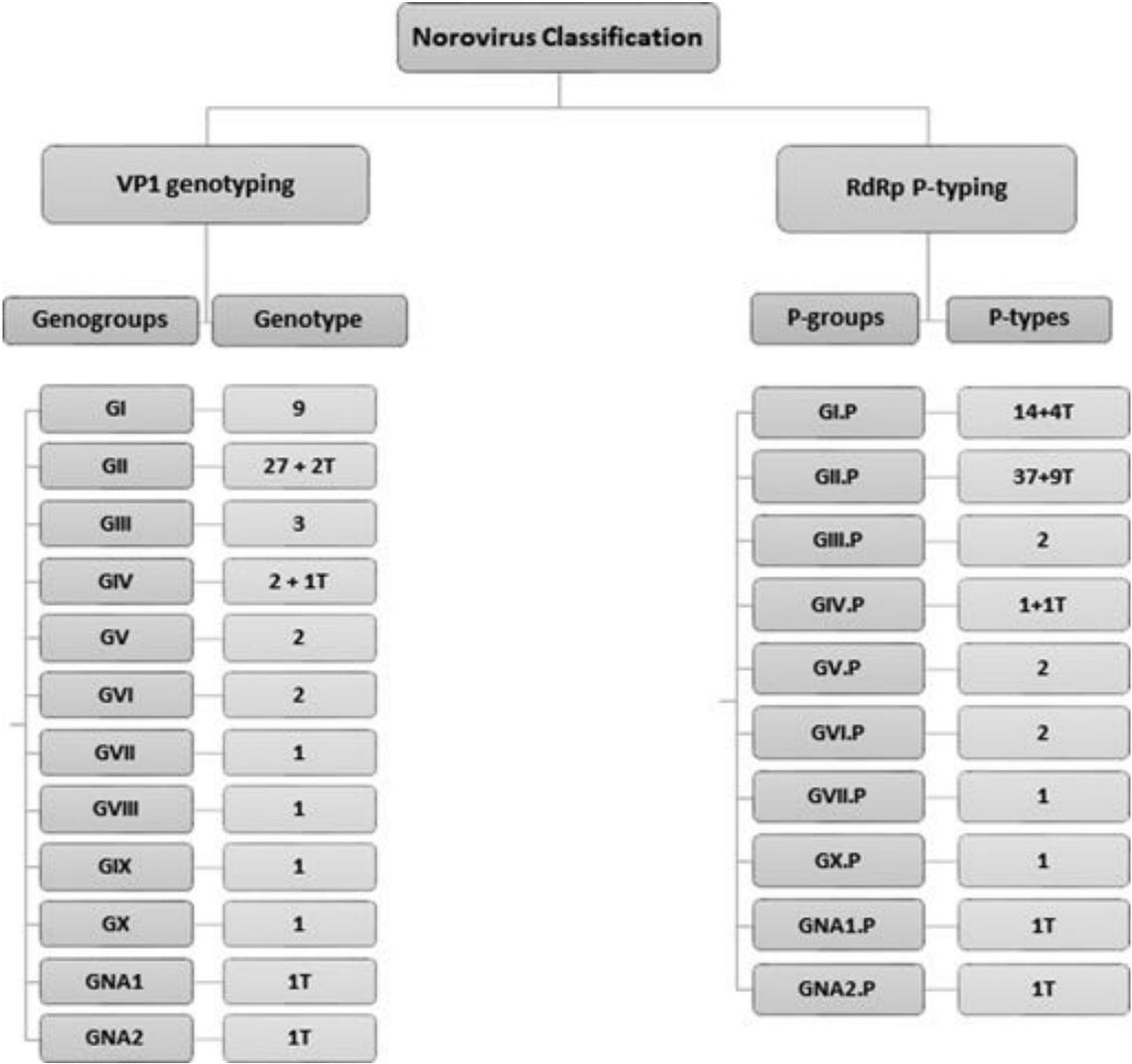
ORF1/ORF2による分類



例えば...
 VP1遺伝子型 --- G11.3
 RdRp遺伝子型 --- G11.P12
 → G11.3[P12]

再掲

遺伝子群/遺伝子型の新しい分類



再掲

Dual typing法に用いるプライマー

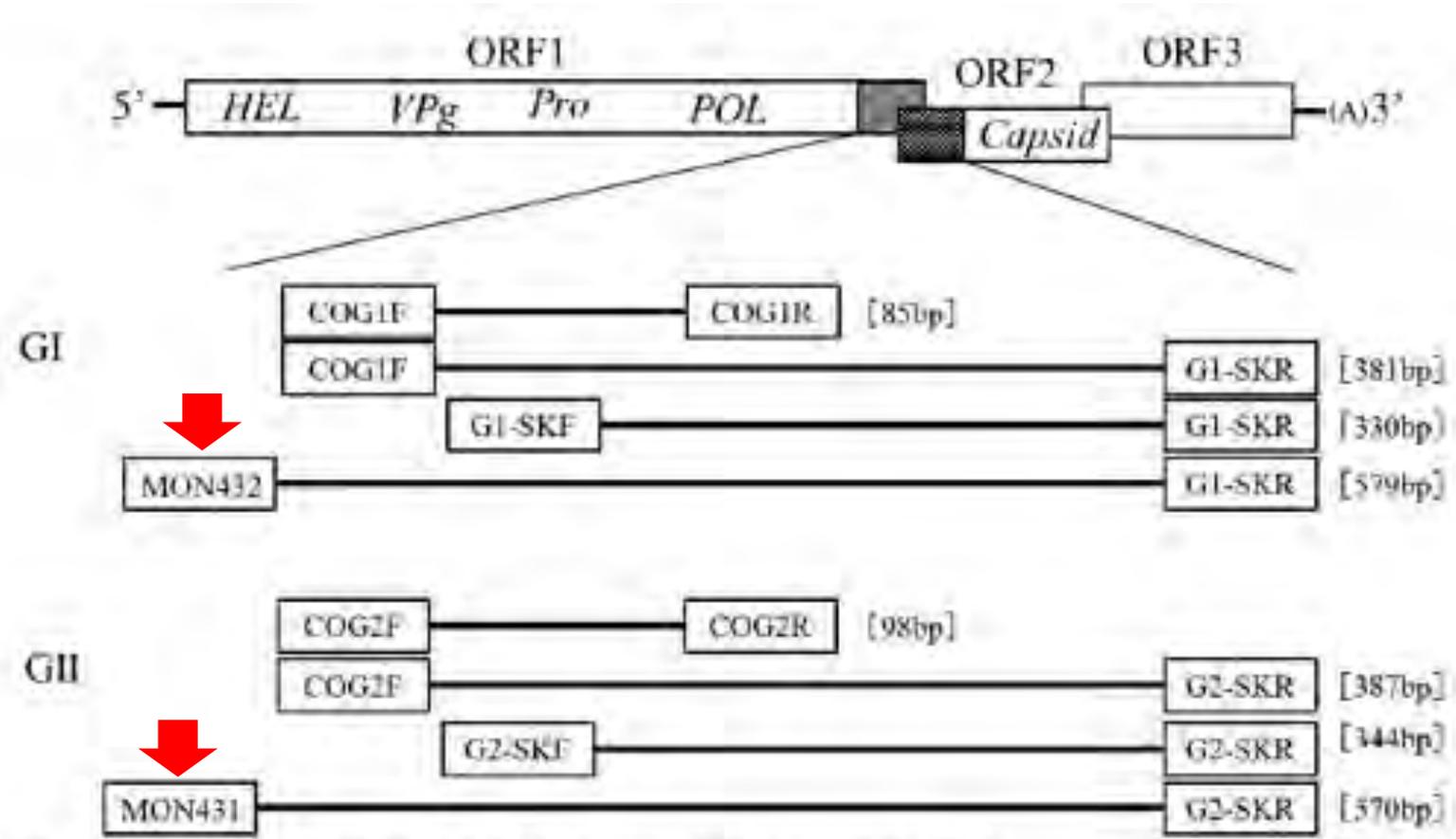


図2. NoV 検査に使用するプライマーとプローブの位置



再掲 ノロウイルス遺伝子型判定ツール

オランダ国立公衆衛生環境研究所による提供
<https://www.rivm.nl/mpf/typingtool/norovirus/>

National Institute for Public Health and the Environment

Norovirus Typing Tool Version 2.0

Norovirus Genotyping Tool Results

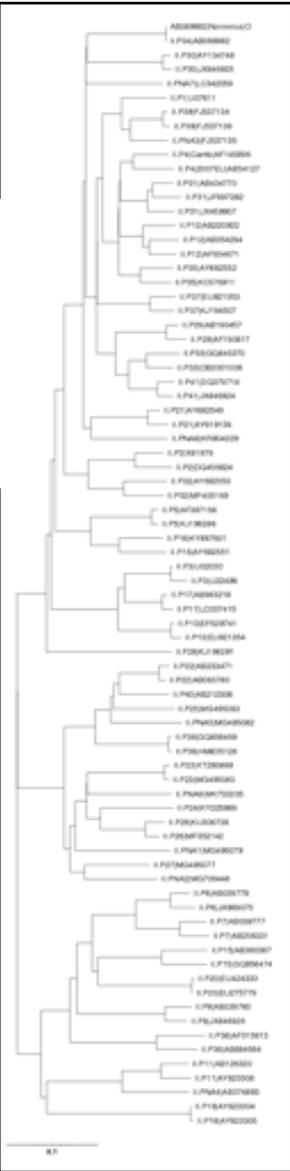
You may bookmark this page to revisit results of this job (2000548895) later.

Name	Length	Family	Genus	Genogroup	BLAST score	polymerase	capsid	Report
AB888882 Norovirus OC437667	1045	Caliciviridae	Norovirus	GII	83.47826	GII P34 (GII P1)	GII 2	Report

Download results: [XML File](#) [Table \(Excel format\)](#) [Table \(CSV format\)](#) [Sequences \(FASTA format\)](#)

Developed by: [RIVM](#) (Harry Vennema, Annelies Kretzschmar) and [Erwin J. de Boer](#)

Contact: [TBD](#)



C) Or, revisit results from a previous run:

Job-id:

Developed by: [RIVM](#) (Harry Vennema, Annelies Kretzschmar) and [Erwin J. de Boer](#)

Contact: [TBD](#)

病原体検出マニュアルの改訂 (再周知)



再掲

The screenshot shows the NIID website interface. In the left sidebar, the menu item '病原体検出マニュアル' (Pathogen Detection Manual) is highlighted with a red box. A red arrow points from this menu item to the right-hand box. The main content area displays various articles and research topics, including '新型コロナウイルスの新規抗体はウイルスの弱点を攻撃することでSARS類ウイルスや変...' and 'ハイスループットな中和試験法によるタイのフラビウイルス中和抗体の血清疫学調査: 201...'.

病原体検出マニュアル
ノロウイルス (第1版)
平成31年6月

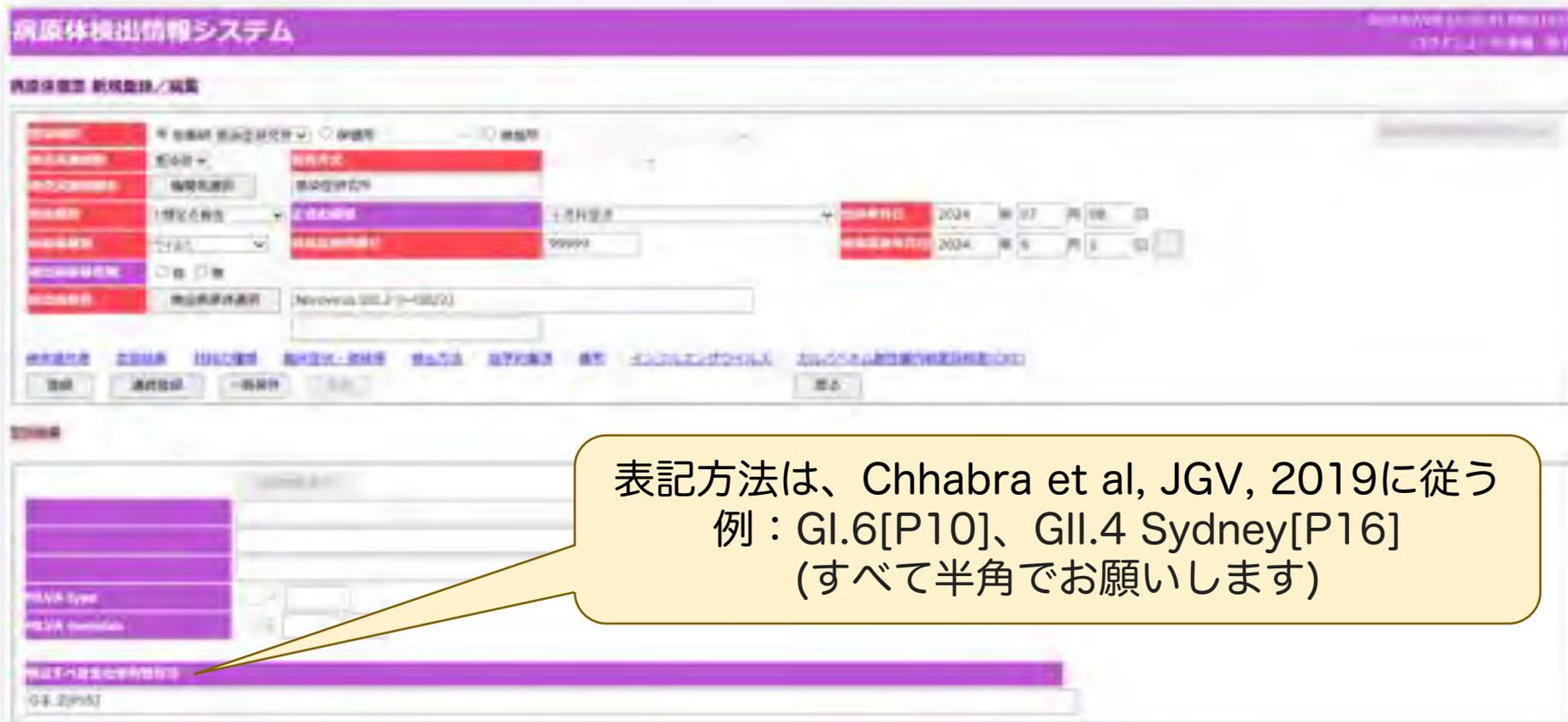
新しい分類に対応したシーケンス方法等が収録されています

Dual typing法のNESIDへの反映

Q. Dual typing法により得られた遺伝子型を
NESIDに登録するには？

A. 病原体個票における「型別結果」の
「特記すべき生化学的性状等」をお使いください

NESIDへの入力方法について (1)



病原体検出情報システム

病原体検出情報登録/編集

表記方法: Gl.6[P10], GII.4 Sydney[P16] (すべて半角でお願いします)

表記方法は、Chhabra et al, JGV, 2019に従う



NESIDへの入力方法について (2)

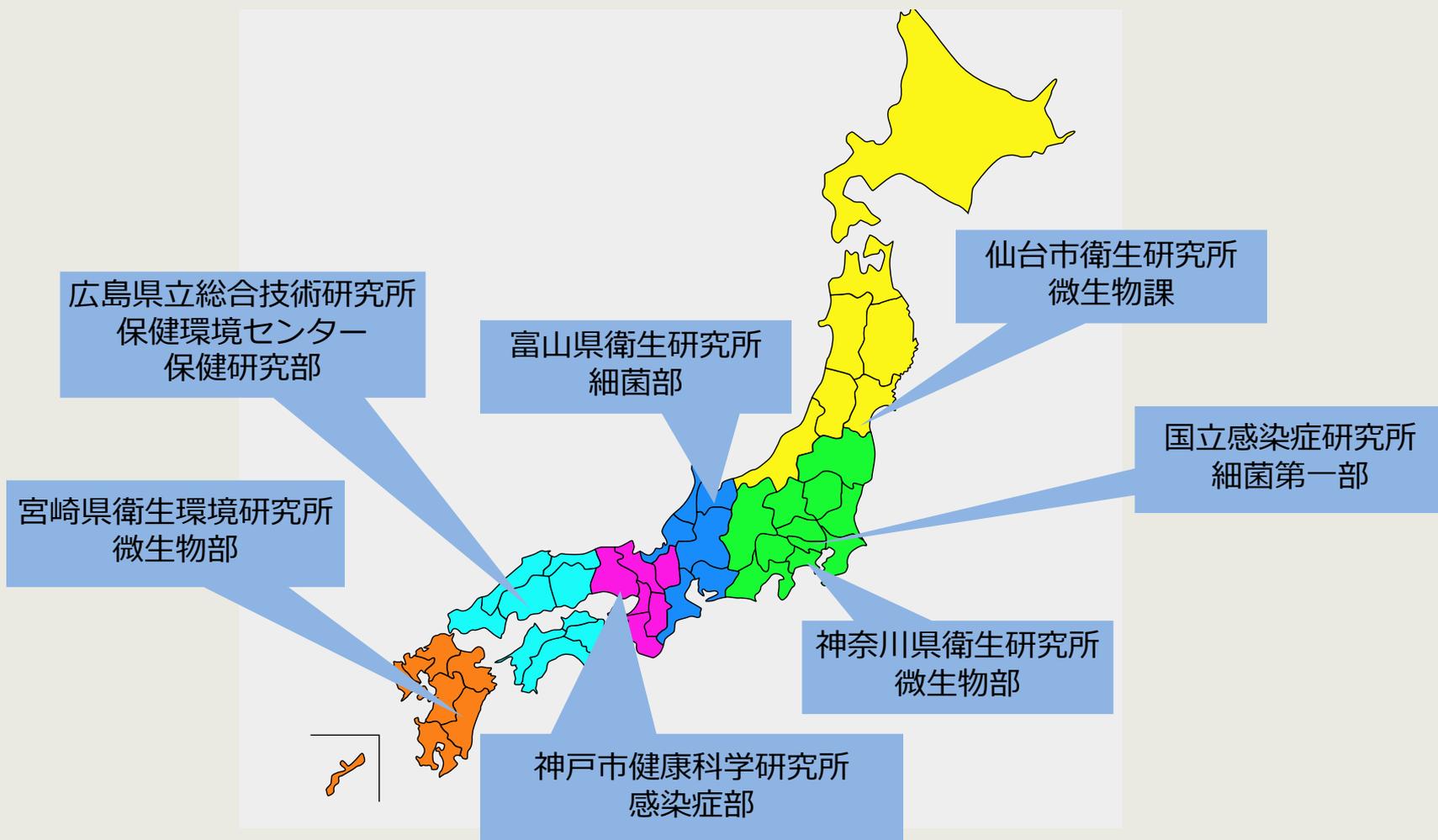
病原体個票		Page	1
登録機関名	感染症研究所	登録年月日	2024年 7月 8日
検査実施機関	感染研	報告方式	
報告種別	5類定点報告	病原体種別	ウイルス
検体提供者番号	99999	検体採取年月日	2024年 6月 1日 (第22週)
検出病原体	Norovirus GII.2 (←GI1/2)	検出病原体有無	
型別結果		特記すべき生化学的性状等	GII.2 [P16]

手探りで進めておりますので、
ご要望等ありましたらどうぞお知らせください。

発病年月日	年 月 日	転帰	不明
発生動向報告ID			
材料の種類 <input checked="" type="checkbox"/> 糞便 (←腸内容物、直腸ぬぐい液) <input type="checkbox"/> 生検、剖検材料【臓器名】 <input type="checkbox"/> 喀痰・気管吸引液 <input type="checkbox"/> 血液(全血、血清、血漿) <input type="checkbox"/> 穿刺液 (←腹水、胸水、関節液) <input type="checkbox"/> 咽頭ぬぐい液 (←うがい液、鼻汁、鼻腔ぬぐい液) <input type="checkbox"/> 髄液 <input type="checkbox"/> 皮膚病巣 (←水疱内容、痂皮、創傷) <input type="checkbox"/> 結膜ぬぐい液 (←結膜擦過物、眼脂) <input type="checkbox"/> 尿 <input type="checkbox"/> 陰部尿道頸管擦過物/分泌物 <input type="checkbox"/> 吐物 <input type="checkbox"/> その他 ()			
臨床症状・徴候等 (基礎疾患を除く) <input type="checkbox"/> 不詳 <input type="checkbox"/> 無症状 (←健康者) <input type="checkbox"/> ショック症状 (←低血圧、循環不全) <input type="checkbox"/> 頭痛 <input type="checkbox"/> 発熱(最高体温 _____ °C) <input checked="" type="checkbox"/> 胃腸炎 (<input type="checkbox"/> 下痢 (←水様便等) <input type="checkbox"/> 嘔気、嘔吐 <input type="checkbox"/> 血便 (←粘血便) <input type="checkbox"/> 腹痛 <input type="checkbox"/> 熱性けいれん <input type="checkbox"/> 関節痛、筋肉痛 (←関節炎・筋炎) <input type="checkbox"/> 角膜炎 <input type="checkbox"/> 結膜炎 <input type="checkbox"/> 角結膜炎 <input type="checkbox"/> 口内炎 (←歯肉炎) <input type="checkbox"/> 髄膜炎 (←頂部硬直) <input type="checkbox"/> 意識障害			

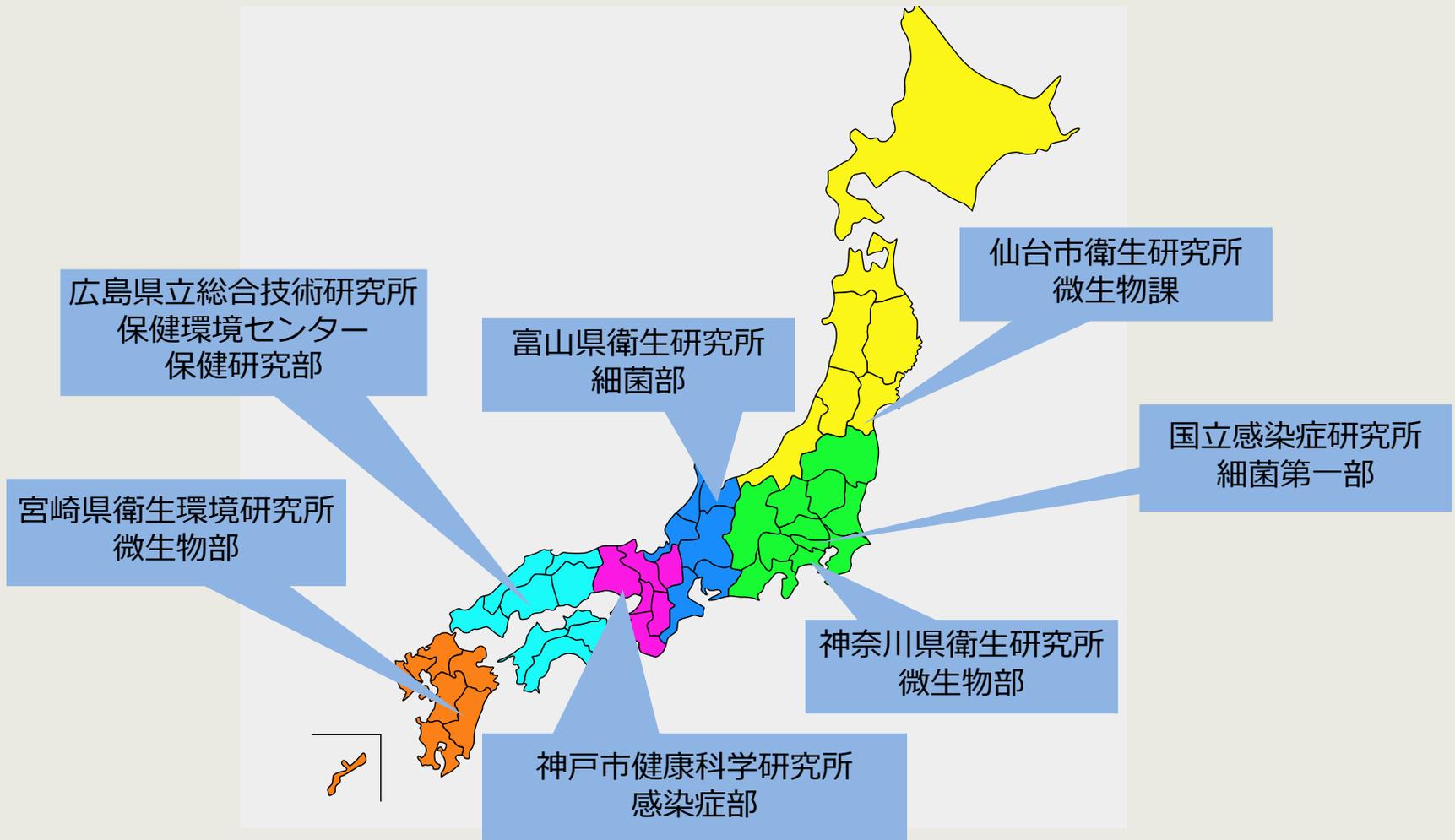
10. レジオネラ

レジオネラ・レファレンスセンター会議



衛生微生物技術協議会第44回研究会
Zoom Meeting 2024.6.26. 10:00-

レジオネラ・レファレンスセンター会議報告会



衛生微生物技術協議会第44回研究会
2024.7.10. 11:00-

本日の議題

✓ 臨床分離株の収集状況・型別

✓ 各支部報告

- ・（MLVA、SBTが過去の事例と一致した場合の）行政検査の試験成績書
- ・ PFGE、SBT解析に用いる代表株のスクリーニング方法

✓ トピックス

- ・ 外部精度管理
- ・ 冷却塔に起因したレジオネラ症集団感染事例

年別レジオネラ症報告数

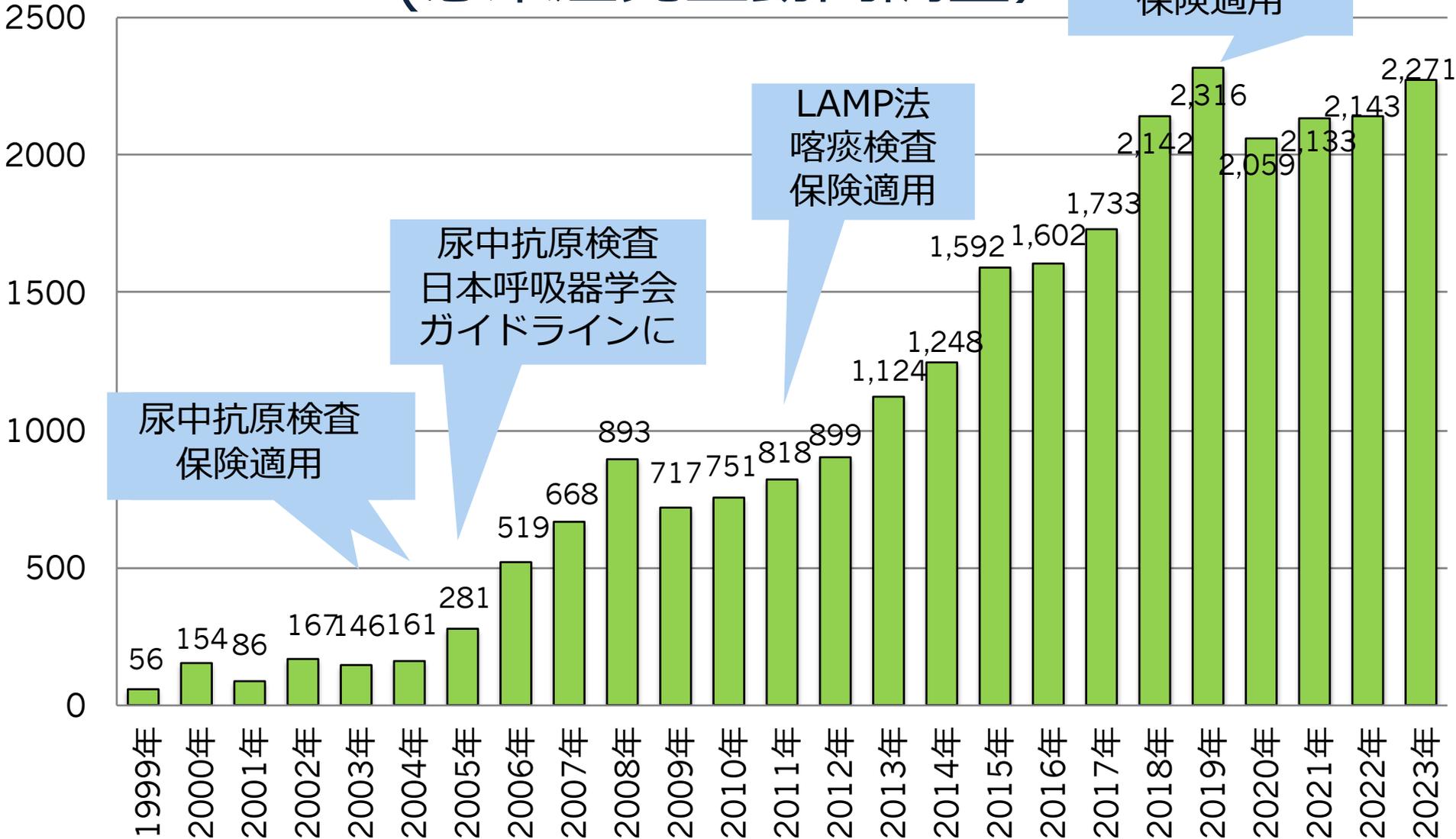
(感染症発生動向調査)

リボテスト
保険適用

LAMP法
喀痰検査
保険適用

尿中抗原検査
日本呼吸器学会
ガイドラインに

尿中抗原検査
保険適用



※1999年の報告数は4～12月までの数値である。

お知らせ

IASR 病原微生物検出情報

2024年7月号

〈特集〉レジオネラ症

特集関連記事14報

2023年度活動実績

- 市販されていないレジオネラ免疫血清の受注生産品（デンカ）の配布
 - レジオネラ・ニューモフィラ混合血清（混合1, 2, 3, 2-15群）
 - ロングビーチ1群、2群、
 - フィーレイ1群、2群、アニサ、ジオルダニス
 - ロンデニエンシス1群、2群、ボゼマニイ2群
 - セントヘレンシ1群、2群、ハックリー（1,2群混合）
- *L. pneumophila*血清型別M-PCR用プライマーセット・コントロールDNAの配布
- レジオネラ属菌検査外部精度管理

2024年度活動予定

- 市販されていないレジオネラ免疫血清の受注生産品（デンカ）の配布
 - レジオネラ・ニューモフィラ混合血清（混合1, 2, 3, 2-15群）
 - ロングビーチ1群、2群、
 - フィーレイ1群、2群、アニサ、ジオルダニス
 - ロンデニエンシス1群、2群、ボゼマニイ2群
 - セントヘレンシ1群、2群、ハックリー（1,2群混合）
- *L. pneumophila*血清型別M-PCR用プライマーセット・コントロールDNAの配布
- レジオネラ属菌検査外部精度管理

お知らせ

国立感染症研究所「人を対象とする生命科学・医学系研究倫理審査」において、

「レジオネラ臨床分離株のサーベイランス」が、6月20日に承認されました。

収集した*Legionella pneumophila*臨床分離株について、遺伝子型別、全ゲノム解析を行い、感染源解明のためのデータベース構築の基礎資料とします。

お願い

厚労科研レジオネラ研究班・分子疫学グループ

(感染研、神戸市、富山県、神奈川県、川崎市)

で、疫学調査のための*L. pneumophila***ゲノム解析マニュアル**化検討にあたり、送付いただいた菌株の全ゲノム解析を行わせて下さい。

使用不可の場合、ご連絡下さい。

ゲノムデータを公表する際には、改めて、お願いを致します。

参加したい方は、ご連絡下さい

臨床分離株の収集状況・型別

国立感染症研究所細菌第一部

レジオネラ臨床分離株、2013–2023年

菌種	株数
<i>Legionella pneumophila</i>	702
<i>Legionella longbeachae</i>	6
<i>Legionella bozemanai</i>	1
<i>Legionella dumoffii</i>	1
<i>Legionella feeleii</i>	1
<i>Legionella anisa</i>	1
合計	712

IASR7月号掲載予定

Legionella pneumophila の血清群、2013—2023年

血清群	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	13	14	合計
2013年	40	1	1	0	1	1	0	0	1	0	0	0	45
2014年	38	0	2	1	0	0	0	1	1	0	1	1	45
2015年	79	1	0	0	0	0	0	0	3	0	1	0	84
2016年	61	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	64
2017年	92	2	3	1	3	0	0	0	1	0	0	0	102
2018年	68	2	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	72
2019年	81	2	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0	88
2020年	42	1	0	0	0	0	1	0	0	2	0	0	46
2021年	54	4	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	59
2022年	34	4	1	0	1	1	0	0	0	1	0	0	42
2023年	41	1	4	0	1	6	0	1	0	1	0	0	55
合計	630	19	12	2	8	11	2	3	7	5	2	1	702

IASR7月号掲載予定

株数	ST (カッコ内はグループまたはSG)†
51	ST23
49	ST120(S1)
38	ST89 ([S1])
18	ST42 (N)
16	ST502 (B1)
14	ST138 (B3), ST679 (S1), ST2398 (B2)
12	ST353 (S1),
11	ST354 (SG2), ST505 (B2), ST507 (S1), ST609 (U)
10	ST1 (C1)
9	ST132 (S1), ST876 (S1), ST1186 (S1), ST2399 (B2)
8	ST550 (S1)
7	ST39 (SG2), ST384 (S1), ST739 (S3)
6	ST139 (B1), ST352 (S3), ST788 (B2), ST1798 (B2)
5	ST591 (S2), ST642 (B1), ST701 (N), ST973(S1), ST1346 (B2), ST2114 (B1)
4	ST68 (SG6), ST92 ([S1]), ST93 (SG3), ST114 (U), ST127(U), ST142 (B1), ST905 (S1), ST1187 (S1), ST2372 (B2)
3	19種類のST
2	26種類のST
1	157種類のST
1	neuA増幅せずST未決

†血清群(SG)1の国内分離株をSTでグループ分けすると、浴槽水分離株が多く含まれるB1, B2, B3、冷却塔水分離株が多く含まれるC1, C2、土壌分離株が多く含まれるS1, S2, S3、感染源不明の臨床分離株が多いUグループに分かれる。各グループに属する遺伝子型と3遺伝子座が異なる場合、[カッコ]付きのグループで示す。N:いずれのグループにも属さない。

レジオネラレファレンスセンターR5年度活動報告

＜北海道・東北・新潟ブロック＞

1) レジオネラ属菌外部精度管理サーベイについて

令和6年2月に希望する8地研(北海道・青森県・岩手県・宮城県・仙台市・福島県・新潟県・新潟市)が参加した。

2) 班会議等への出席及び血清等配布について

令和5年6月・12月にweb開催された、厚生労働科学研究「公衆浴場の衛生管理の推進のための研究」の研究班班会議への出席及びWGへの参加協力を行った。また、厚労科研費にて購入の免疫血清及び*L.pneumophila*の血清型別M-PCRプライマーセット及び試薬・器材をブロック内で希望する地研あてに配布した。

3) ブロック内レジオネラ患者発生状況及び感染研あて菌株送付について(表1・表2)

表1 感染症法による届出数(R5年)

	R5年
北海道(札幌市・函館市除く)	28
札幌市	14
函館市	13
青森県	13
秋田県	18
岩手県	33
宮城県(仙台市除く)	45
仙台市	24
山形県	20
福島県	47
新潟県	45
新潟市	7
合計	307

表2 感染研への菌株送付状況(R5年)

No	患者年齢	性別	菌種	血清群	その他
1	69歳	男	<i>L. pneumophila</i>	5	
2	63歳	男	<i>L. pneumophila</i>	1	
3	68歳	男	<i>L. pneumophila</i>	1	
4	67歳	男	<i>L. pneumophila</i>	2	
5	71歳	男	<i>L. pneumophila</i>	1	
6	48歳	男	<i>L. pneumophila</i>	1	
7	76歳	男	<i>L. pneumophila</i>	1	
8	74歳	女	<i>L. pneumophila</i>	6	
合計8株(No.1~3山形県、No.4新潟県、No.5~8新潟市)					

※No.5~7はいずれも令和5年3月に感染研へ送付した菌株で、前年度のレファレンスセンターへの活動報告において報告対象期間外であったものの既に報告してしまったため重複しているが、今年度も改めて掲載。

4) 各地研における検査状況について(詳細は、表3「R5年度 検査状況」参照)

5) 要望及び質問事項等について

(1) 要望

(岩手県)浴槽水以外の感染例についてレファレンス会議で取り上げてほしい。

(2) 質問事項

(北海道)当所では現在、感染源特定や集団感染事例対応時の菌株の遺伝子型別法をPFGEからMLVAとSBTへ切り替えるため、保存株を用いた予備実験を実施中です。

既に行政検査としてMLVA、SBTを導入済みの地衛研に以下の2点についてご教示いただけると幸いです。

- ① MLVAやSBTの型が(当該事例以外の)過去の事例株と一致するようになりますか。
- ② ①のように過去の事例株とMLVA、SBTの型が一致した場合、どのように試験成績書で報告してますか。

表3 R5年度 検査状況

	検査数	内訳 (陽性検体数/検体数)														検出菌・血清群等	検査方法					
		浴槽水	シャワー水	ふきとり	上がり湯	冷却塔水	給湯水	修景水	プール	貯水槽	その他	喀痰	咽頭拭い液	気管支洗浄液	血液		菌株	ろ過濃縮法	冷却過心濃縮法			
北海道	5															3/5 (培養検査陽性)				喀痰から 培養検査でLp SG1検出(3名分3検体) 遺伝子検査陽性・培養陰性(1名分1検体) (培養前のスクリーニングとしてCycleavePCR Legionella (16S rRNA) Detection Kit (タカラバイオ)を用いた遺伝子検査を全検体に実施)	○ (検水濃縮)	○ (検水量が少ない時、拭き取り、臨床検体)
札幌市	9	0/6	1/1 シャワー・ カーン水						0/2											シャワー・カーン水から Lp SG 3		○
函館市	1	0/1																			○	
青森県	0																				○	
秋田県	79	16/71				0/2										0/3	0/2		0/1	浴槽水から Lp SG1,5,6、L.londiniensis	○	
岩手県	60	11/48		5/6												0/6				浴槽水から Lp SG1,6,8,10、L.micdadei、Legionella spp. ホースふき取りから レジオネラ属菌(迅速法)	○	
宮城県	177	41/147				4/6										13/24				浴槽水から Lp SG1,3,4,5,6,8,9,10,12,15,UT 冷却塔水から Lp SG1,3,5 喀痰から Lp SG1,2	○	
仙台市	12	5/6				3/5		0/1 噴水												浴槽水から Lp SGg4/10、 Lp SG1,6,12,15、L.micdadei、Legionella sp. 冷却塔水から Lp SGg1、Legionella sp.	○	
山形県	15															8/15				喀痰から レジオネラ属特異LAMP法陽性8件、 L.p特異的PCR陽性7件、培養陽性3件	なし	なし
福島県	100	7/100																		浴槽水から Lp SG 1,3,5,6	○	
新潟県	11						5/11													給湯水から Lp UT	○	
新潟市	99	7/53				3/5	3/20	2/12								4/9				浴槽水から Lp SG1,5,6、L.Dumoffii、Legionella sp. 冷却塔水から Lp SG6 給湯水他から Lp SG1,6 修景水・池水から Lp SG5、Legionella sp. 喀痰から Lp SG1,2,6	○ (浴槽水・冷却塔水・給湯水他)	○ (修景水・池水)
合計	568	87/432	1/1	5/6		10/18	8/31	2/13		0/2						28/62	0/2		0/1			

R5(2023)年度の関東甲信静支部活動状況

関東甲信静支部所属機関数:27

- 外部精度管理事業に18機関が参加
- 22機関にレジオネラ血清等試薬を配布
- 5機関にレジオネラ血清型別PCRプライマーセットを配布

質問事項への回答(北海道)(神奈川衛研の場合)

- ① MLVAやSBTの型が(当該事例以外の)過去の事例株と一致するようなことはありますか。
- ② ①のように過去の事例株とMLVA、SBTの型が一致した場合、どのように試験成績書で報告していますか。

MLVAは実施していないが、研究レベルの検討においてSBTが過去の事例において検出されたものと一致することはある。

このため、当所の行政検査においては、疫学的関連性のある場合のみSBTによる株間比較を実施している。加えて、分子疫学はあくまで、実施疫学の補助と考えている。

令和 6 年度レファレンスセンター報告 東海北陸支部

富山県衛生研究所

人口10万人あたり報告数(2023年)

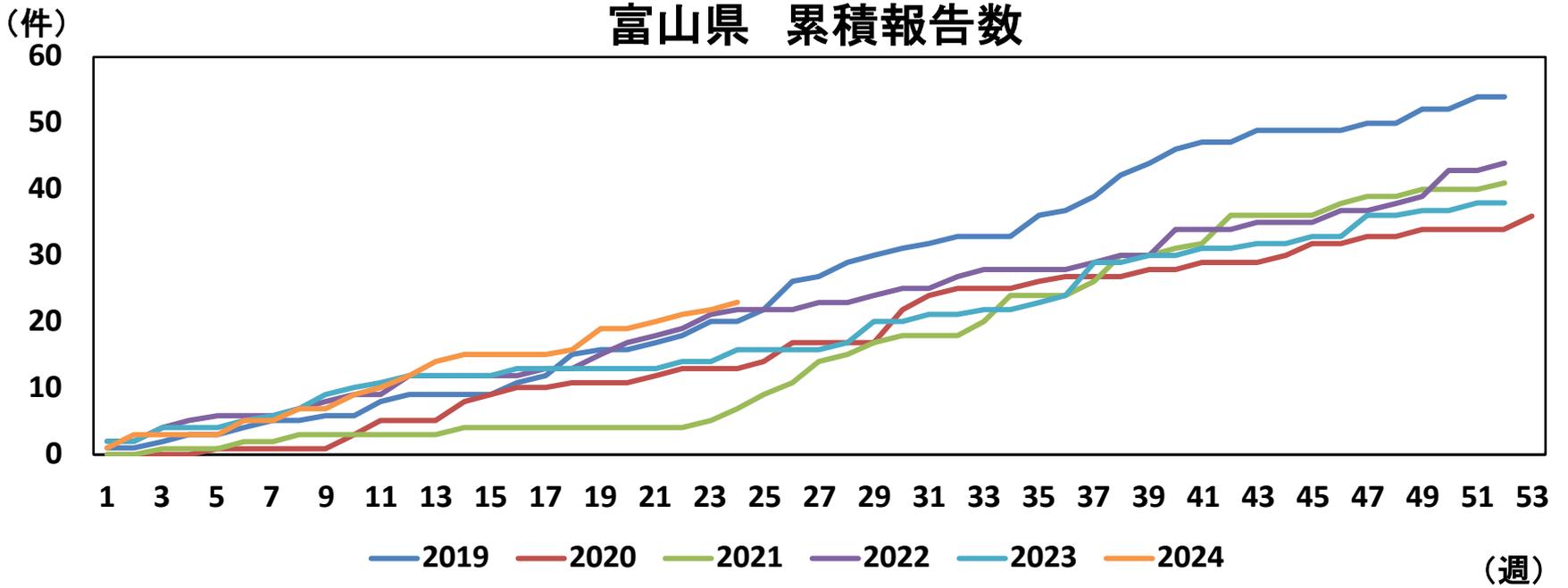
県	報告数	順位
富山	3.77	1
石川	2.91	7
福井	2.87	9
岐阜	3.23	4
愛知	1.92	20
三重	1.58	33

全国平均 1.81

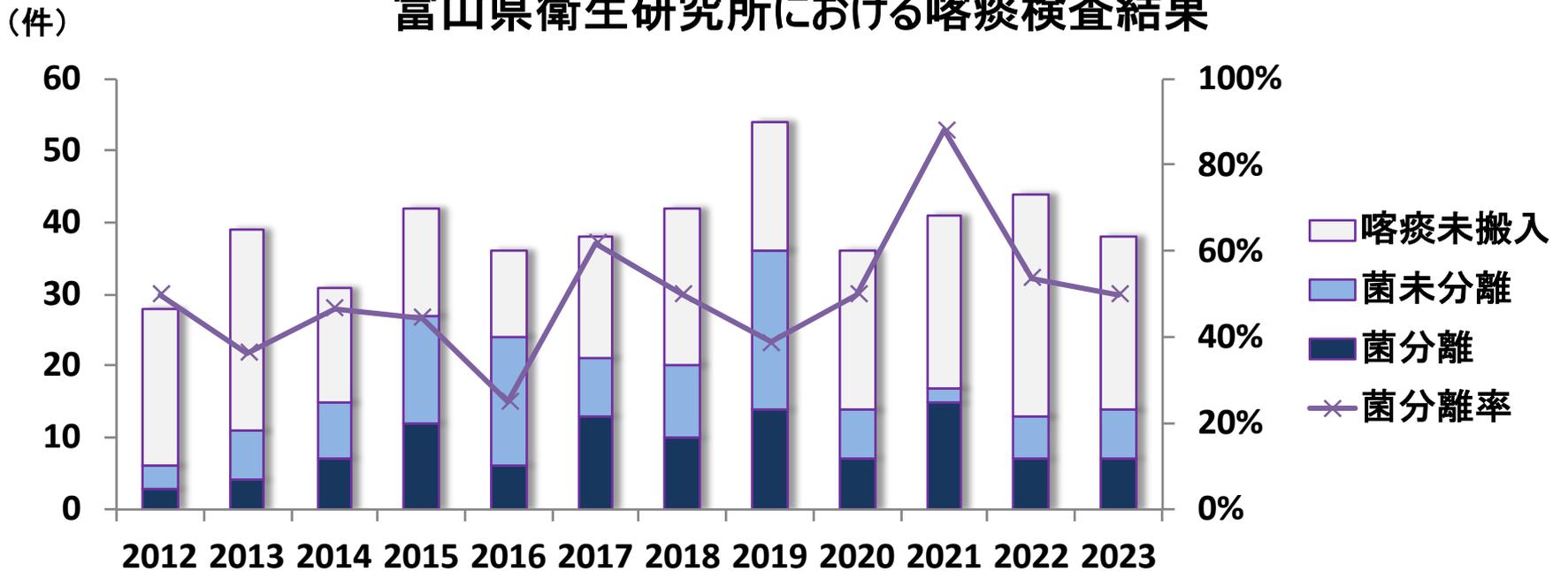
人口10万人あたり報告数(過去5年間)

年	1位	2位	3位	全国平均
2019	富山	群馬	長野	1.81
	4.97	3.78	3.03	
2020	岡山	富山	栃木	1.61
	4.12	3.32	3.14	
2021	石川	富山	山形	1.66
	3.88	3.78	3.42	
2022	富山	石川	茨城	1.70
	4.25	4.15	3.24	
2023	富山	群馬	栃木	1.81
	3.77	3.30	3.26	

富山県 累積報告数



富山県衛生研究所における喀痰検査結果



感染研への菌株送付(富山県)

2023年 10株

No.	Strain	SG	Year	Month	flaA	pile	asd	mip	mompS	proA	neuA	ST	Group
1	LG3156	SG1	2022	Dec	3	13	1	14	29	9	11	3175	U
2	LG3158	SG1	2023	Feb	3	13	1	10	14	9	11	127	U
3	LG3159	SG1	2023	Jul	27	3	9	15	56	5	6	679	S1
4	LG3163	SG1	2023	Jul	27	3	9	15	5	5	6	2128	S1
5	LG3167	SG1	2023	Sep	6	10	19	3	19	4	6	502	B1
6	LG3168	SG1	2023	Sep	7	6	17	3	11	11	9	505	B2
7	LG3171	SG1	2023	Sep	7	6	17	3	11	11	9	505	B2
8	LG3173	SG1	2023	Sep	4	17	11	23	5	12	19	143	
9	LG3183	SG3	2023	Nov	3	10	1	28	14	9	11	196	
10	LG3184	SG1	2024	Jan	6	10	15	28	17	14	6	2350	B1

レジオネラ・レファレンスセンター会議

近畿ブロックからの報告

神戸市健康科学研究所 感染症部

近畿ブロックの活動報告

1、レジオネラ属菌外部精度管理について

- ・令和6年2月に希望する7地研（尼崎市、京都市、姫路市、滋賀県、奈良県、大安健、京都府）が参加した。
- ・神戸市では、島津ダイアグノスティクス（旧 日水製薬）が実施する外部精度管理への継続的な参加のために、外部精度管理参加費を管理事務事業として計上できるようにした。

日常の検査法の中の最もシンプルな方法で行われ、回収率を評価対象としている唯一の外部精度管理

2、レジオネラ免疫血清・血清型別Mutiplex-PCR用プライマーキットの11地研に配布

免疫血清：6地研

Mutiplex-PCRキット：5地研

3、当所のMLVAプロトコルの提供：3地研

4、検査状況（神戸市） 2023年

届出数	26
喀痰等臨床検体または菌株の検査数	13
臨床検体からの分離数、()は菌株数	3 (2)
関連調査としての検査等	0

5、感染研への菌株送付（神戸市）

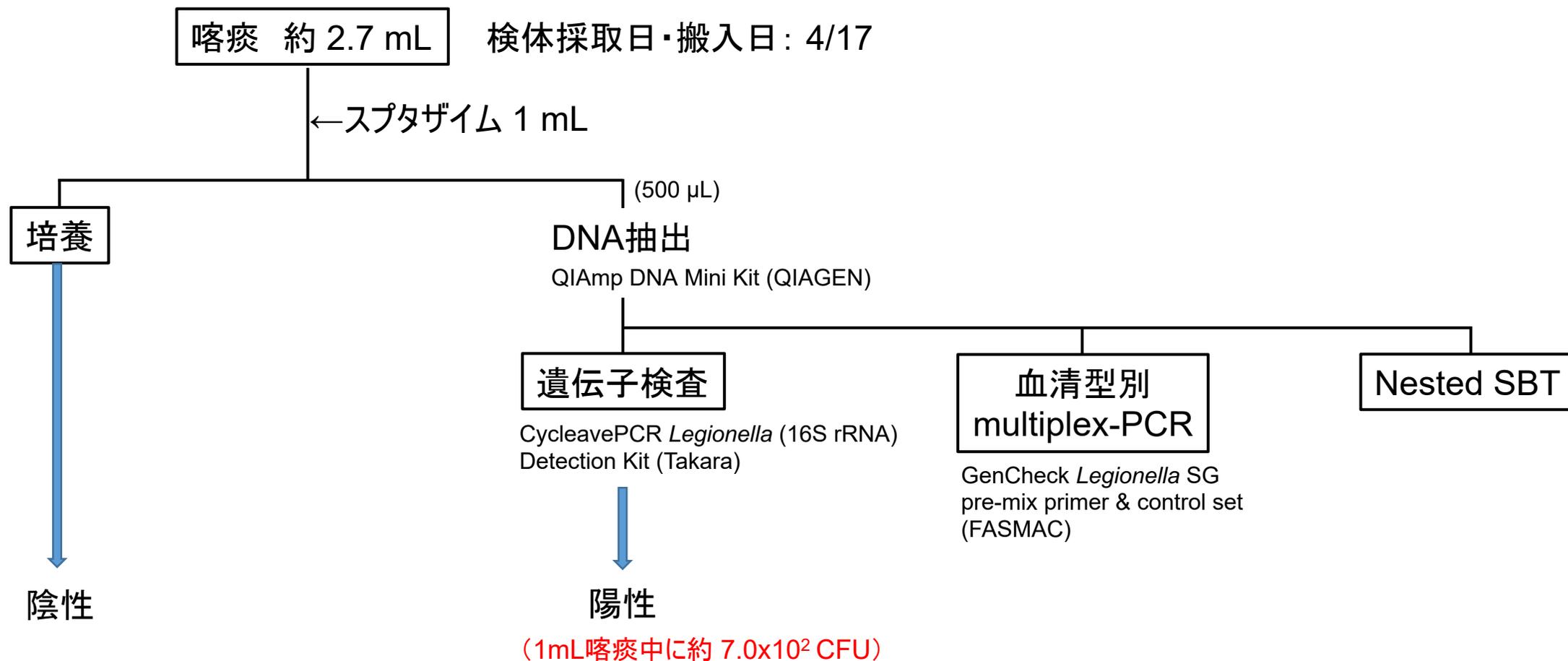
2023年 5株

- ・ *L. pneumophila* 血清群1 4株
- ・ *L. pneumophila* 血清群6 1株

菌株No.	性別	年齢	菌種	血清型	遺伝子型
KL2490	65	女	<i>L. pneumophila</i>	SG6	ST1992
KL2530	73	男	<i>L. pneumophila</i>	SG1	ST733
KL2532	79	男	<i>L. pneumophila</i>	SG1	ST20
KL2563	57	男	<i>L. pneumophila</i>	SG1	ST3235
KL2589	51	男	<i>L. pneumophila</i>	SG1	ST42

【事例紹介】

培養陰性喀痰DNAを用いた *L. pneumophila*の血清型別multiplex-PCRおよびNested- SBTの検討



血清型別multiplex-PCR

[反応液組成表]

1段階目 M-PCR

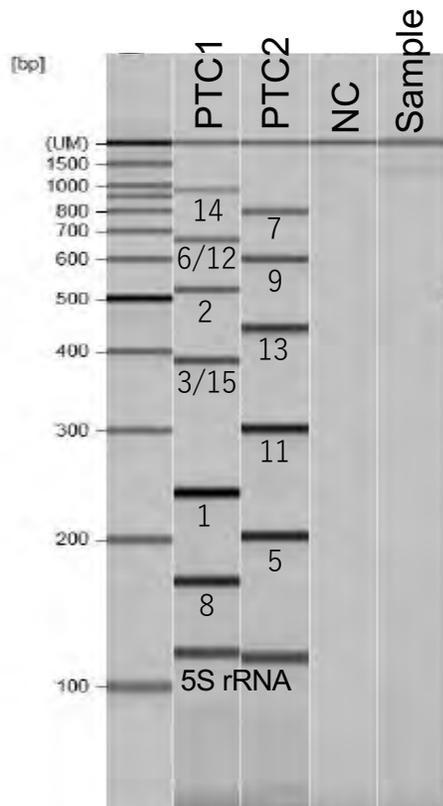
2x QIAGEN Multiplex PCR Master Mix	10 μL
Primer set1	4.8 μL
鋳型 DNA または PTC または RNase-Free Water	1.0 μL
RNase-Free Water	4.2 μL
Total	20 μL

2段階目 M-PCR

2x QIAGEN Multiplex PCR Master Mix	10 μL
Primer set2	0.8 μL
鋳型 DNA または PTC または RNase-Free Water	1.0 μL
RNase-Free Water	8.2 μL
Total	20 μL

[PCR 反応条件]

温度	時間	サイクル数
95°C	15 min	1 cycle
94°C	30 sec	28 cycles
60°C	90 sec	
72°C	30 sec	
72°C	10 min	1 cycle
4°C	∞	



5S rRNAのバンドを確認できず。

Reaction solution	1st set mixture ¹⁾	2nd set mixture ²⁾
2 × Multiplex PCR Master Mix ³⁾	10 μL	10 μL
<u>Q-solution³⁾</u>	4 μL	4 μL
Primers	22 primers of 0.2 μM each	4 primers of 0.2 μM each
DW	Up to 18 μL	Up to 18 μL
Extracted DNA ⁴⁾	2 μL	2 μL
Total	20 μL ⁵⁾	20 μL ⁵⁾

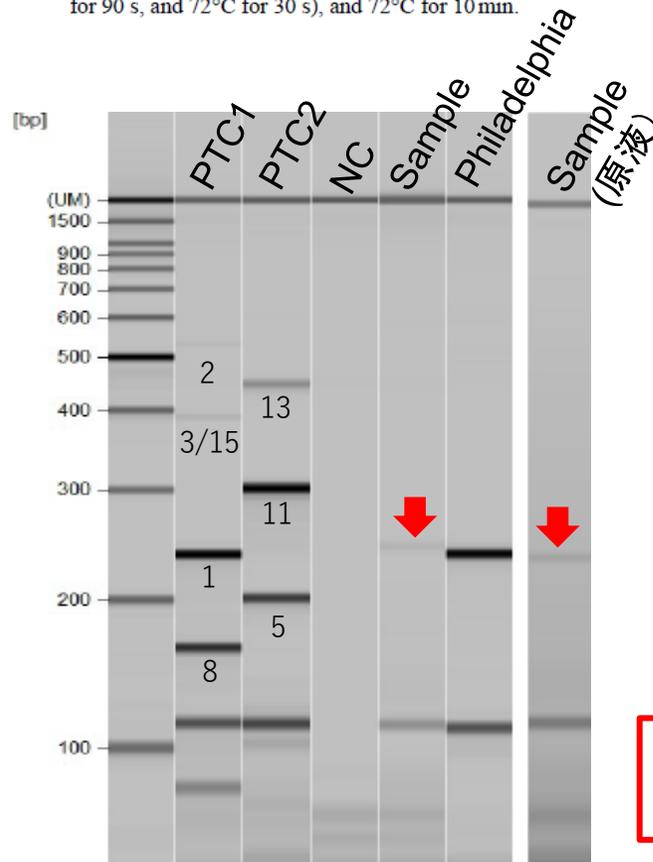
1): Multiplex PCR to distinguish *L. pneumophila* serogroups 1, 2, 3/15, 5, 6/12, 7, 8, 9, 11, and 13 (4).

2): Multiplex PCR to detect *L. pneumophila* serogroups 4/10/14 and other serogroups (4).

3): Included in the QIAGEN Multiplex PCR Plus kit (Qiagen).

4): The QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen) was used to extract DNA from the sputum specimen.

5): Mixtures subjected to 95°C for 15 min, followed by 35 amplification cycles (94°C for 30 s, 60°C for 90 s, and 72°C for 30 s), and 72°C for 10 min.

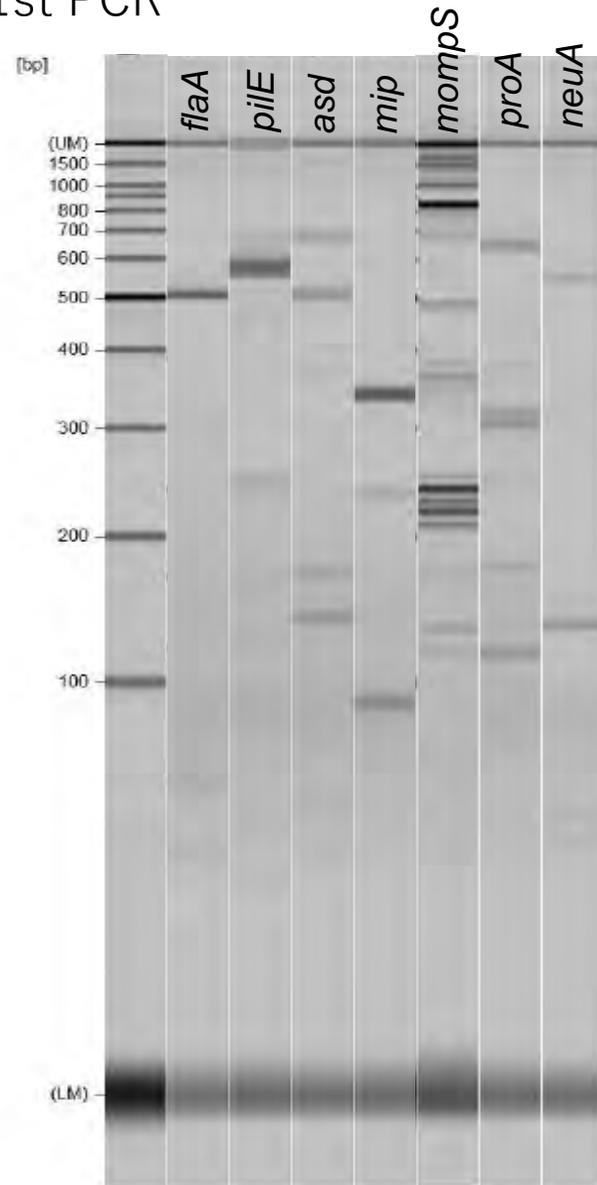


5S rRNA, SG1のバンドを確認できた。

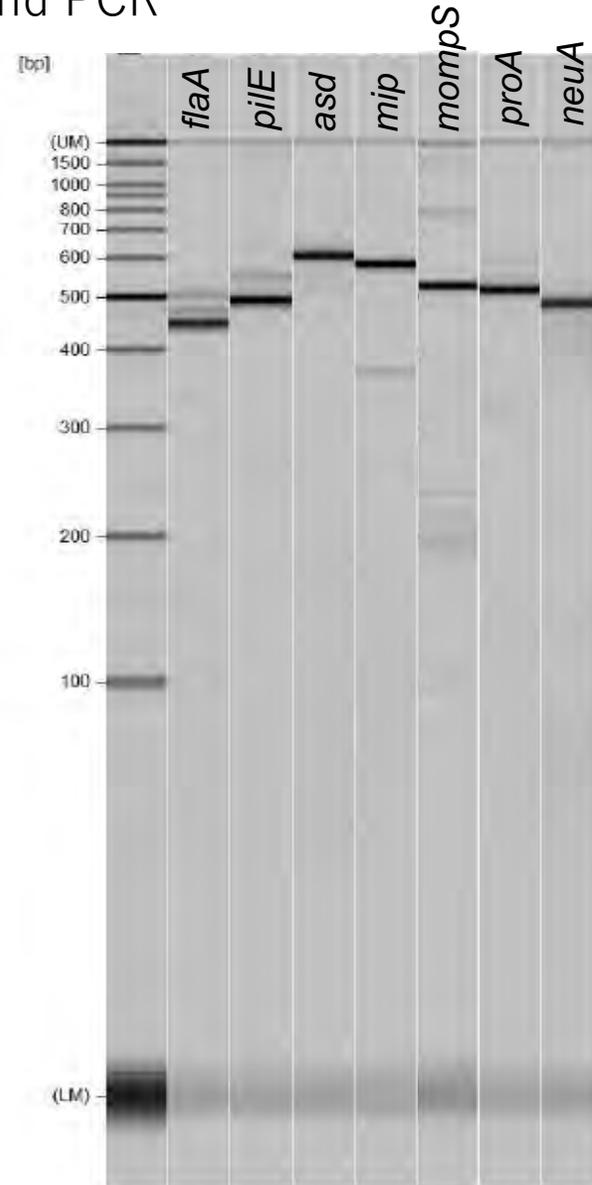
Seto J, et al. *J Infect Dis.*
2024 Mar 21;77(2):118-120.

Nested-SBT

1st PCR



2nd PCR



	Allele number	ST
<i>flaA</i>	3	609
<i>pilE</i>	13	
<i>asd</i>	1	
<i>mip</i>	1	
<i>mompS</i>	14	
<i>proA</i>	9	
<i>neuA</i>	1	

Uグループ

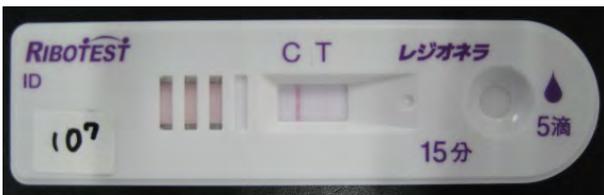
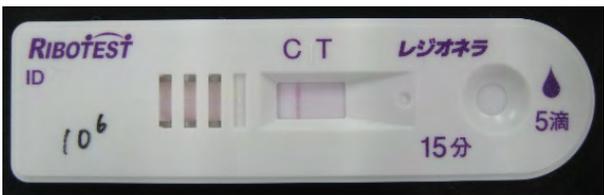
【事例紹介】

患者喀痰および土壌から分離された *L. longbeachae* の Ribotest Legionella に対する反応性の評価

背景: イムノクロマト(リボテスト®レジオネラ)陽性でレジオネラ症と診断
患者喀痰の培養により、*L. longbeachae* が分離された

リボテスト®レジオネラの添付文章によると、*L. longbeachae* に対して抗原濃度 4.0×10^3 CFU/test では公差反応性を示さない。

↓
分離株のリボテスト®レジオネラに対する反応性を評価した。

菌濃度 (CFU/test)	1.0×10^8	1.0×10^7	1.0×10^6
	 陽性	 陽性	 陰性

抗原濃度 10^3 CFU/test 以上で陽性になる *L. pneumophila* と比較すると、*L. longbeachae* の検出感度は著しく劣るが、リボテスト®レジオネラでの診断も可能となることが示唆された。

神戸市健康科学研究所におけるSBTとMLVAの実施状況

		SBT	MLVA
行政検査	実施	◎	× 株のスクリーニングのために実施 SBTの補助的ツール
	料金	○	×
調査研究	実施	○	◎

SBT: 感染源特定や集団感染事例対応時の菌株の遺伝子型別法
gold standard
MLVA: 菌株の絞り込み、SBTの補助的ツール

- 北海道
- ① MLVAやSBTの型が(当該事例以外の)過去の事例株と一致するようなことはありますか。
→ STが過去の事例株と一致することはある。
 - ② ①のように過去の事例株とMLVA、SBTの型が一致した場合、どのように試験成績書で報告していますか。
→ 関連性が認められる場合は(口頭で)報告する。
疫学的関連性が認められない場合、特に報告はしていない。
- 大安研
- ③ 昨年度、患者と同じ血清型(特に*L. pneumophila* SG1)の菌株が施設検体から多数分離され、分子疫学解析(PFGEやSBT)を急ぐ必要に迫られたことがありました。こうした場合、解析に用いる代表株のスクリーニングに適した方法はありますか。
→ (補助的に)MLVAを実施する。

近畿ブロック内の回答：13施設中9施設回答

□ 北海道の質問回答

MLVAやSBTを導入しているか。

- ・ 導入していない施設：7施設
- ・ SBT導入施設：2施設
- ・ MLVA導入施設：1施設



■ MLVAやSBTの型が（当該事例以外の）過去の事例株と一致する例は？

ある：1施設

照合する機会がない：1施設

■ 成績書での報告は？

- ・ 関連性が認められる場合は（口頭で）報告する。疫学的関連性が認められない場合、特に報告はしていない。

□ 大安研の質問回答

- ・ スクリーニングにMLVAを使用している。
- ・ 7施設は対応事例なしとの回答

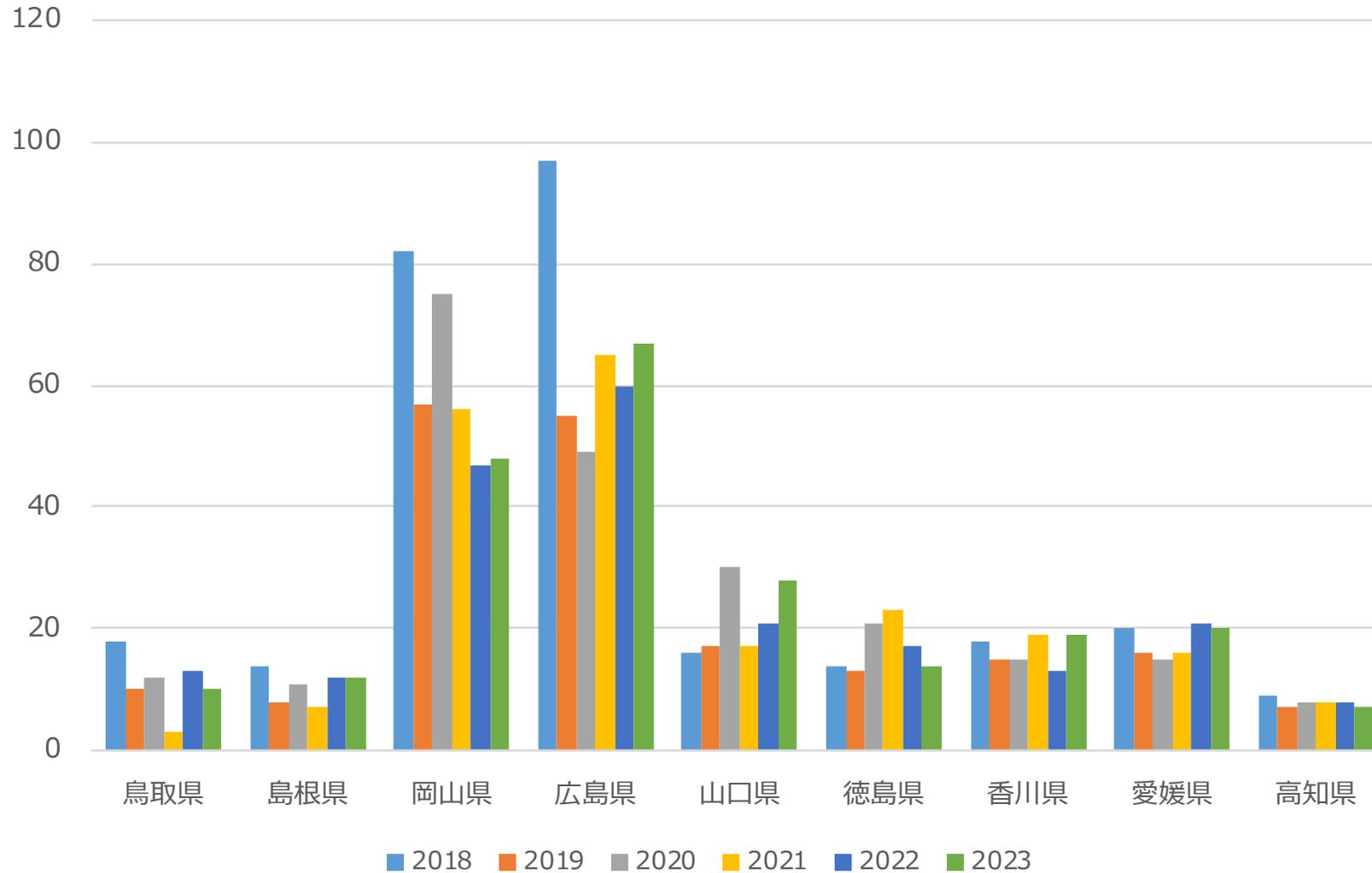
中四国支部報告

広島県立総合技術研究所保健環境センター

令和5年度レファレンスセンター活動内容

- 「公衆浴場の衛生管理の推進のための研究」
班会議への参加 (Web参加)
- 中四国支部の外部精度管理参加募集
- レジオネラ免疫血清の配布

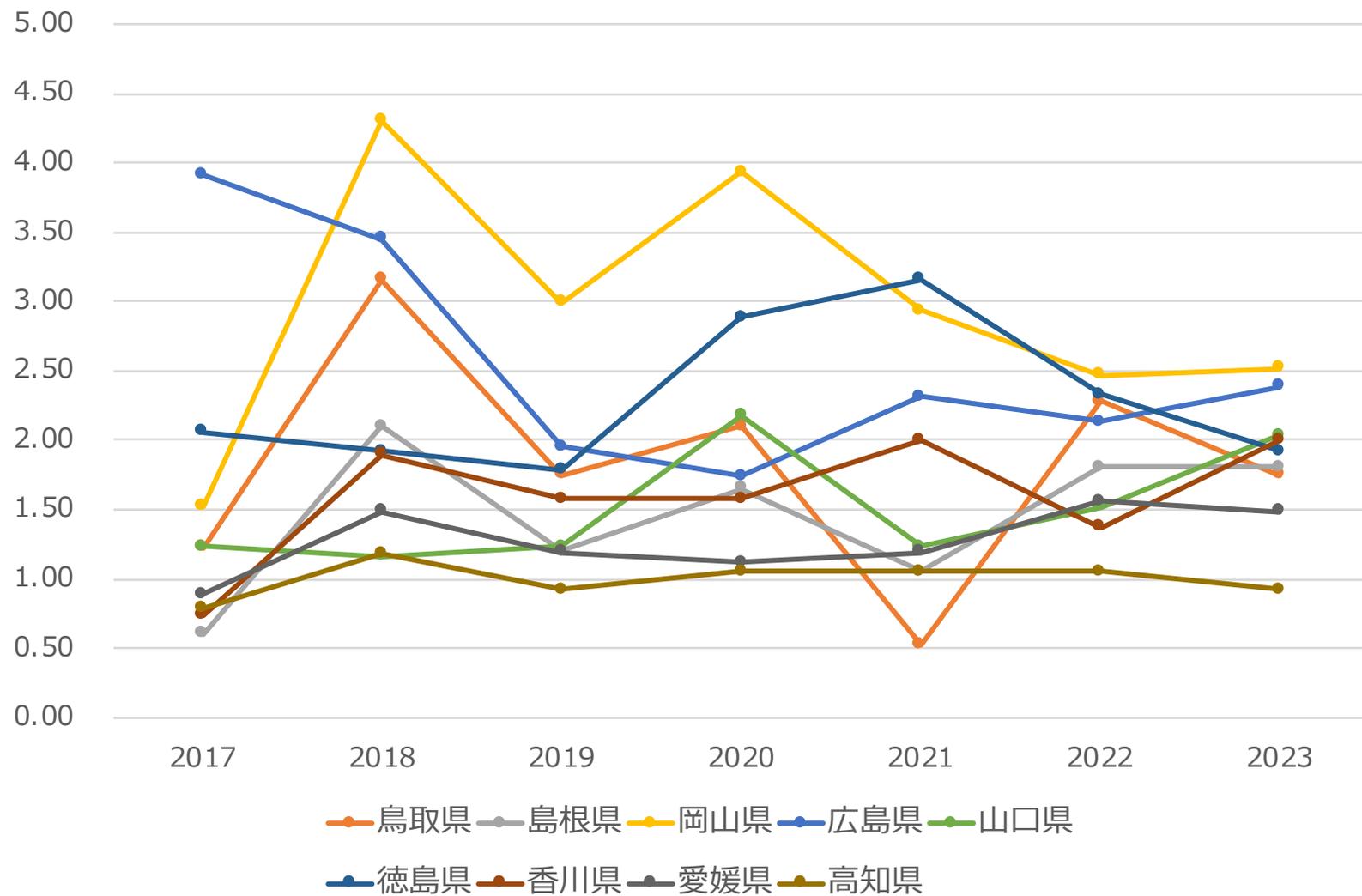
中四国地方のレジオネラ症届出数 (実数)



2023年報告数(52週時点)

	報告数	全国順位
鳥取県	10	44
島根県	12	43
岡山県	48	18
広島県	67	11
山口県	28	28
徳島県	14	39
香川県	19	34
愛媛県	20	33
高知県	7	47

中四国地方のレジオネラ症届出数 (10万人対)



	報告数	全国順位
鳥取県	1.80	25
島根県	1.78	26
岡山県	2.54	11
広島県	2.39	14
山口県	2.06	16
徳島県	1.92	18
香川県	1.99	17
愛媛県	1.49	37
高知県	1.00	44

全国平均 **1.80**

事前議題：北ブロックからのご質問

Q1: MLVAやSBTの型が過去の事例株と一致したことはあるか？

Q2: 一致した場合の報告の方法は？



A1: 公衆浴場から分離された株において、SBTの型が他県の分離株と一致した例がありました。

A2: PFGEの結果を報告し、SBTの結果は報告しませんでした。

※ 報告後にSBTを実施したため

事前議題：近畿ブロックからのご質問

Q: 集団事案の際に緊急で分子疫学解析を実施する必要がある場合、解析する代表株のスクリーニングに適した方法がありますか。

A: 事前にスクリーニングを実施した経験はありません。

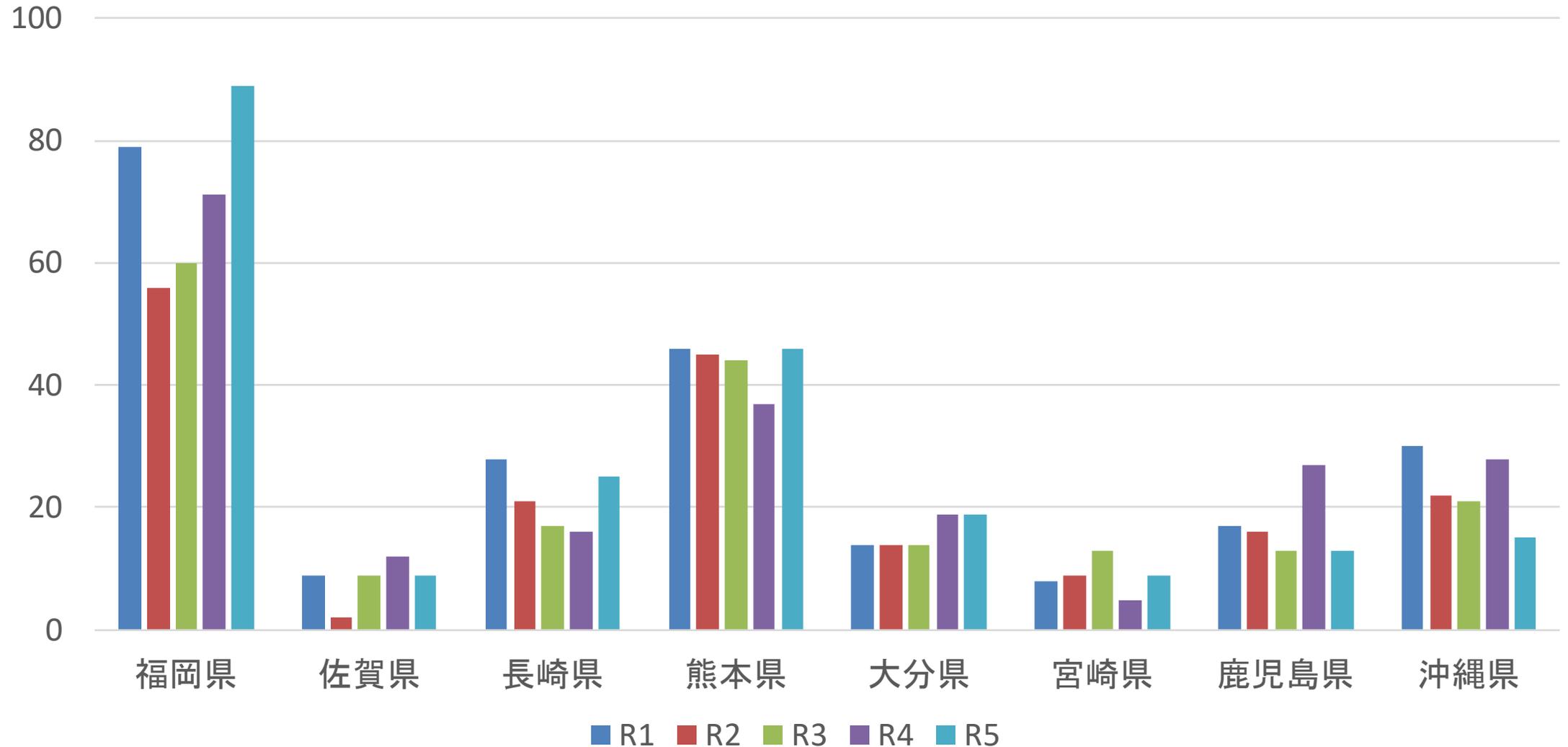
- ・ 浴槽水中には多様な型のレジオネラがいる
- ・ 1名でも浴槽水分離株と一致すれば感染源となる

⇒ 浴槽水分離株を多めに解析する必要があるのでは

令和6年度レジオネラレファレンスセンター報告 九州支部

宮崎県衛生環境研究所

九州ブロックにおけるレジオネラ患者発生状況



令和5年度 活動状況

- 「公衆浴場等施設の衛生管理におけるレジオネラ症対策に関する研究」班会議への参加
- レジオネラ属菌外部精度管理（FAPAS）調査への参加協力依頼
 - ・・・九州ブロックは8地衛研の参加

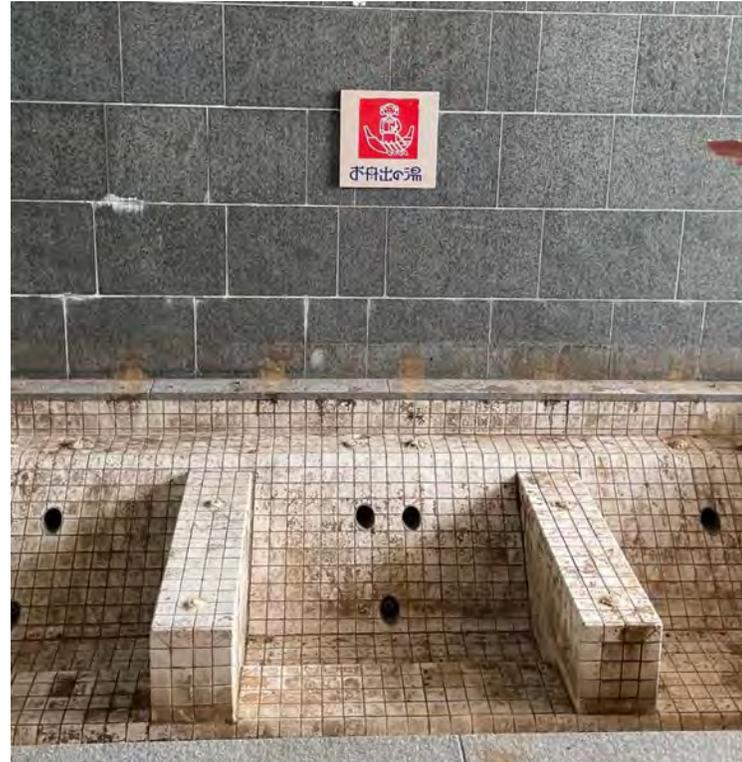
令和5年度 活動状況

- 免疫血清・血清型別Multiplex-PCR用プライマーキットの配布
…九州ブロックは11地衛研へ配布
(免疫血清 9 施設、PCRプライマーキット 2 施設)

試薬名	希望施設数	試薬名	希望施設数
ニューモフィラ混合血清3本セット	3	アニサ	1
ボゼマニイ2群	3	セントヘレンシ1群	3
ロングビーチ1群	4	セントヘレンシ2群	3
ロングビーチ2群	4	ジョルダニス	2
フィーレイ1群	1	ニューモフィラ混合2~15群	1
フィーレイ2群	1	Multiplex-PCR Primer+Contorol Set	2

令和5年度 活動状況

- 環境衛生監視員等研修への参加
 - …日向サンパークへの見学



質問事項について（北海道）

- 九州ブロック12施設中11施設の回答あり

MLVA・SBTの導入状況	回答施設数
導入無し (MLVA導入予定)	8 (3)
①MLVAのみ導入 (SBTは感染研実施)	1
②SBTのみ導入	2

- ①MLVAでは一致する例はないが、SBTについては一致するものがある。
成績書での報告はしておらず、コメントにて「〇〇の型と一緒にです。」を添える程度。
- ②一致例は現時点ではない。SBTを行ったのは過去に1事例のみ。
SBTが一致したことはない。

質問事項について（大安研）

- 九州ブロック12施設中8施設の回答あり
- 菌の発育の仕方や色味で（検査材料や使用培地の情報を加味して）株を選ぶ。
また、*L. pneumophila* SG1の場合、*lag-1*遺伝子の有無で振り分ける。
- 同一血清群のコロニーを複数検査する。
- 代表株のスクリーニング法に適した方法は把握していないが、仮に同様な事例があれば、SBTの1～2領域をシーケンスして、代表株を選別することになるのではないかと考えている。

レジオネラ属菌培養検査 外部精度管理について

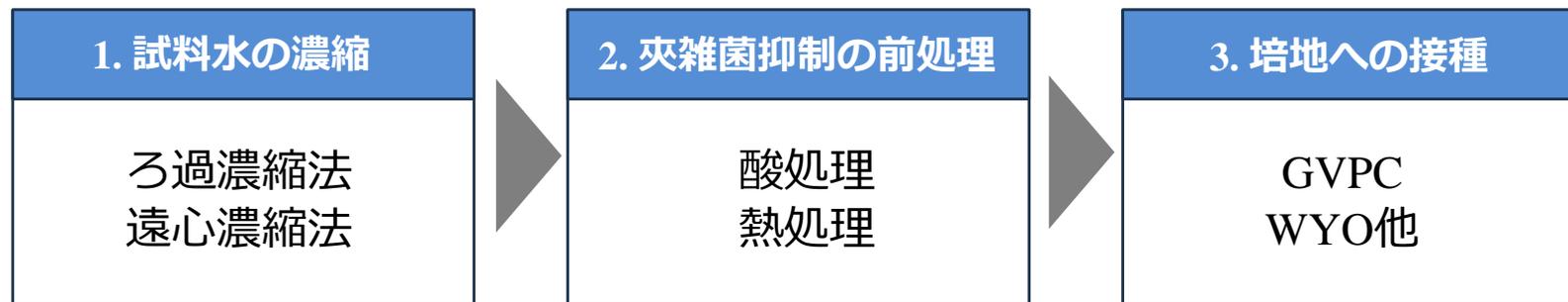


地方独立行政法人
大阪健康安全基盤研究所
衛生化学部 生活環境課
枝川 亜希子

はじめに

レジオネラ属菌培養検査結果は、行政指導の根拠や衛生管理の指標となるため、高い精度が求められる

培養法は大きく分けて3工程で実施する定量試験



試料の水質などを考慮して適した検査方法を選択できる利点がある一方で、一連の操作が検査精度に反映されるため、各検査機関の結果にばらつきが生じる要因となっている

多くの検査機関は外部精度管理に参加し、検査技術の評価を受けている

日本国内で参加可能な外部精度管理

- UKHSA（英国健康安全保障庁）のEQA

民間検査機関を中心に25年以上の参加実績あり 2024年度地衛研参加予定
配付試料は環境水試料に非常に近い実践的な内容

- Fera（英国食料環境研究庁）のFAPAS

2023年度研究班の支援により地衛研54機関が参加、96%の機関が良好範囲内

外部精度管理の実際の手順

外部で用意された模擬試料を各施設の標準作業手順書に従って検査し、
自他施設の結果を比較する

国内実施中のレジオネラ属菌検査精度管理サーベイは、独自の検査法が指定されており、日常的に行っている検査法は使用できない。このサーベイは手技の精度確認に主眼を置いた内容となっている

UKHSAのEQA (レジオネラ研究班での検討)

2023年度に研究班から参加 事務手続きに課題あり

- 英語での書類作成や手続きは、事務的負担大
- 行政機関の多くは海外送金不可のため参加できない状況

研究班からUKHSAへ確認

- ・ 日本代理店の設定は可能か？ ○
- ・ 日本からの参加数増は受け入れ可能か？ ○

研究班から課題の解消を関係者に要請

2024年4月より国内代理店を通じた参加手続き開始

国内代理店：アイデックスラボトリーズ（株）

表 日本国内から参加可能な外部精度管理の概要

名称	EQA (The external quality assessment) legionella isolation scheme	FAPAS (Legionella spp. in Environmental Water Proficiency Test)	(参考) ¹⁾ レジオネラ属菌検査 精度管理サーベイ
レジオネラ外部精度管理の 実施者	UKHSA (UK Health Security Agency) 英国健康安全保障庁	Fera(The Food and Environment Research Agency) 独立行政法人英国食料環境研究庁 (英国環境食料農村地域省傘下)	島津ダイアグノスティクス 株式会社
自施設の検査方法で参加	○	○	× ¹⁾
国	英国	英国	日本
日本からの参加実績	あり 1998年～	あり 2022年～	2016年～
参加者数	約150 (年間4回、1回あたり)	約20 (年間4回、1回あたり)	約100 (年間1回)
R6年度 参加費 (1回あたり)	55,000円(税抜) 年間4回参加の場合は、50,000円(税抜)/回あたり	56,000円(税抜)	未定 (R5年度37,000円税抜)
1回あたりの配付試料数	2	2	1
Zスコア良好範囲外の場合の 再試験・価格	あり 7,000円 (税抜) + 送料	なし	なし
国内代理店の有無	あり (アイデックスラボラトリーズ株式会社)	あり (株式会社セントラル科学貿易)	
配付試料の輸送	常温	常温	冷凍
検査実施までの保管	冷凍	冷蔵	冷凍
配付試料中の レジオネラ以外の細菌の混合	あり	なし	なし
配付試料中に含まれる レジオネラの菌種数	1～2種	1～2種	<i>Legionella pneumophila</i> のみ
レジオネラが含まれないブランク 試料が配付される可能性	あり	あり	なし
配付試料の形状	LENTICULE disc ゼラチン状のディスク	Lyophilized sample フリーズドライ様	BioBall フリーズドライ
検査方法	日常的に行っている自施設の方法	日常的に行っている自施設の方法 非選択培地を用いる (選択培地で参加も可)	指定法 前処理(酸・熱)なし 非選択培地を15枚用いる
検査結果の報告	菌数および菌種(血清群) 菌数のみの報告も可	菌数および菌種(血清群) 菌数のみの報告も可	菌数
解析方法	Zスコア	Zスコア	Zスコア
Zスコア解析に用いる 標準偏差の値	0.55	0.55	0.25

詳細は以下を参照

- IASR7月号
- 公衆浴場の衛生管理の推進のための研究(令和5年度報告書)

¹⁾ 独自の検査法が指定されており、日常的に行っている検査法は使用できない。培養検査の工程の一部、濃縮と培地接種操作などの手技の精度確認に主眼を置いた内容となっている。

レファレンスセンター募集の外部精度管理について

厚生労働科学研究費補助金 健康安全・危機管理対策総合研究事業
「公衆浴場の衛生管理の推進のための研究（レジオネラ研究班）」の一環で実施

- 研究班では、外部精度管理の課題の抽出および解消を進めている
- 地衛研の支援も兼ねている（各地衛研での検査技術維持向上に活用）

応募型の研究費が原資のため、今後の継続は保証されていない
(しばらくは継続したいが、、、)

各地衛研においては、外部精度管理の予算確保も検討ください
外部精度管理参加費は、試料購入という形で物品費で支払い可能

2023年度外部精度管理

FAPAS (LG0124 : 2023年2月)

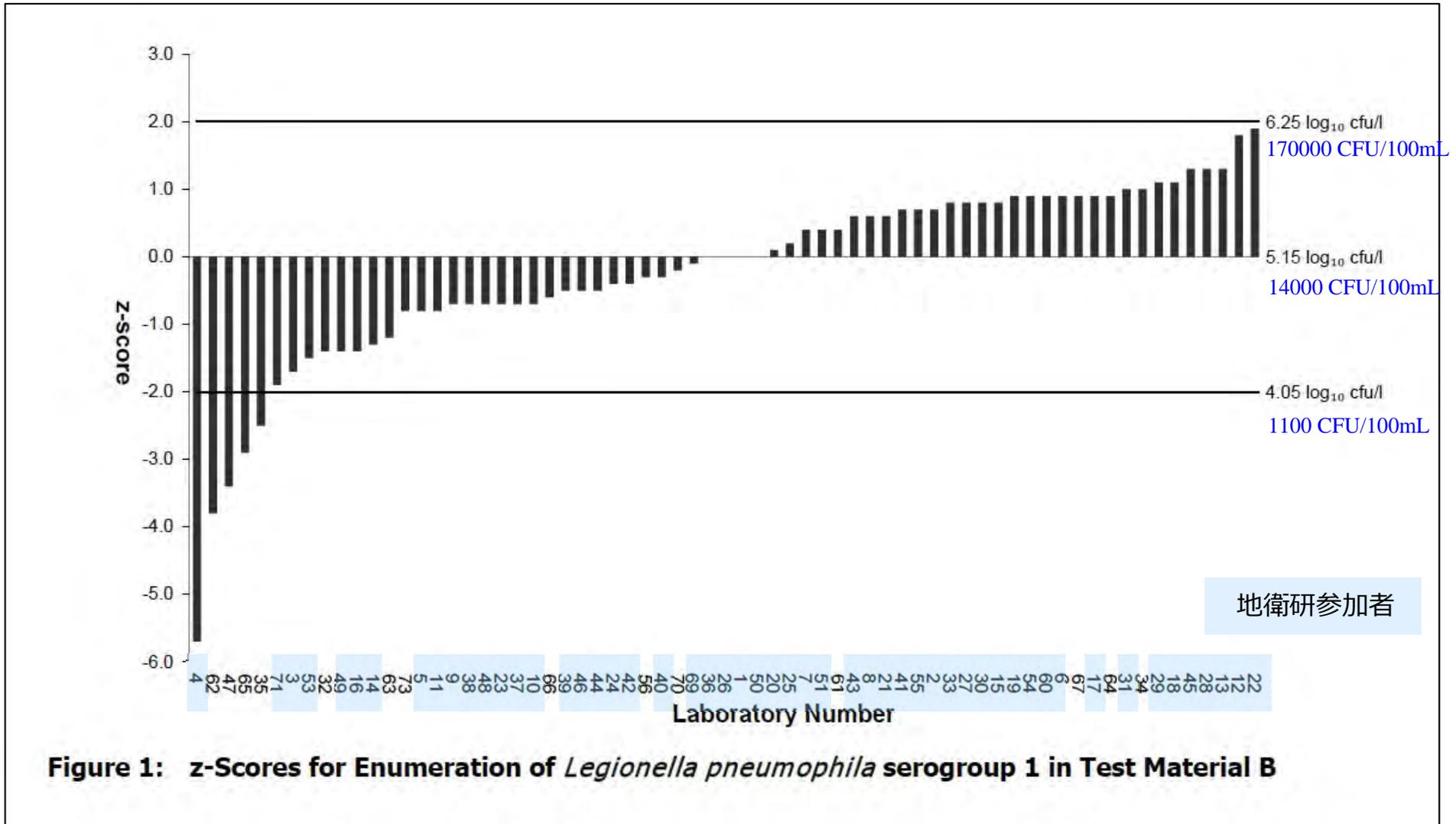
- 地衛研54機関が参加
- 配付は2 試料
 - Test Material A : Blank
 - Test Material B: : *L. pneumophila* SG1



Test Material B の結果

	参加者全体			地衛研参加分		
	正解数	/ 回答数	(%)	正解数	/ 回答数	(%)
<i>Legionella</i> spp. 検出	69	/ 71	(97)	54	/ 54	(100)
<i>L. pneumophila</i>	64	/ 64	(100)	54	/ 54	(100)
Serogroup 1	65	/ 65	(100)	54	/ 54	(100)
Zスコア ≤ 2	62	/ 67	(93)	52	/ 53	(98)

Zスコア FAPAS (LG0124)



2024年度の外部精度管理 募集概要

- 英国UKHSA G136（発送日：9月30日、回答期限：11月8日）
- リファレンスセンター通じて募集 54機関
- 参加費無料（研究班負担、検査器材は各機関対応）
- 参加要件
 - ①レジオネラ培養検査で通常実施される検査通常実施される検査（酸または熱処理・選択培地）に加えて、**（無処理・非選択培地）**を併せて実施すること。
 - ②検査結果について、研究班への提供をご了承いただけること。
- 参加者にはオンライン説明会を実施（日本語9月11日10時～、録画配信あり）

募集の際の参加要件を御一読頂き、
参加協力頂きますようお願い申し上げます

この会議後に支部担当者へ案内を送付予定（募集期間～7/12）

UKHSAのEQAで使用する滅菌希釈液

サンプルの調整は、LENTICULE ディスクを 1 リットルの 滅菌希釈液に溶解する [1:40 Ringers' solution¹](#) 又は [Page's saline²](#) のいずれかを使用

*1 Ringers' solution の組成をご紹介します。

塩化ナトリウム NaCl	9.0g
塩化カリウム KCl	0.42g
塩化カルシウム CaCl ₂	0.24 g
炭酸水素ナトリウム NaHCO ₃	0.2 g
DW	1000mL

この組成で作製後、40 倍希釈して滅菌したものを「滅菌希釈水」とします。

*2 Page's saline の組成をご紹介しますので下記容量に沿ってご準備ください。

塩化ナトリウム NaCl	12 g
硫酸マグネシウム七水和物 MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.4 g
塩化カルシウム二水和物 CaCl ₂ · 2H ₂ O	0.4 g
りん酸水素二ナトリウム Na ₂ HPO ₄	14.2 g
りん酸二水素カリウム KH ₂ PO ₄	13.6 g
DW	1000mL

この組成で作製後、100 倍希釈して滅菌したものを「滅菌希釈水」とします。

参考：内部精度管理の手引き

レジオネラ研究班 about monochloramine_main monochloramine2_main test_main investigation InternalQC 🔍

入浴施設の水環境におけるレジオネラ属菌検査の内部精度管理のための手引き

(このページ内にある別添資料(リンク先のpdfファイル)は、クリック表示後に右上メニューアイコンからダウンロードをクリックすると、お手元にダウンロードすることができます。高解像度で印刷しお手元で使いやすいよう、pdf形式で掲載しています)

(パソコンでは、幅を調整して紙のように狭めたり、文字を少し大きくする(Ctrl+Shift++)と、読みやすいかもしれません。レイアウトが、パソコン、スマートフォン、タブレットに最適になるよう、自動調整されます(新しいGoogleサイトの特長))

目次

- [1. 目的](#)
- [2. 概要](#)
- [3. 内部精度管理手順](#)
- [4. 評価方法](#)
- [5. 別添フローチャート](#)
- [6. 補足スライド資料](#)

1 1. 薬剤耐性菌

レファレンスセンター会議 薬剤耐性菌

世話人：国立感染症研究所 薬剤耐性研究センター 松井真理

今年度の活動計画

- ①陽性コントロールDNA配布
- ②研修予定
- ③カルバペネム耐性腸内細菌目細菌（CRE）病原体サーベイランス集計還元
- ④薬剤耐性菌情報還元用ホームページの開設について

薬剤耐性菌検査に関する情報提供

- ①CRE病原体サーベイランス情報還元
- ②CRE検査における確認事項

その他

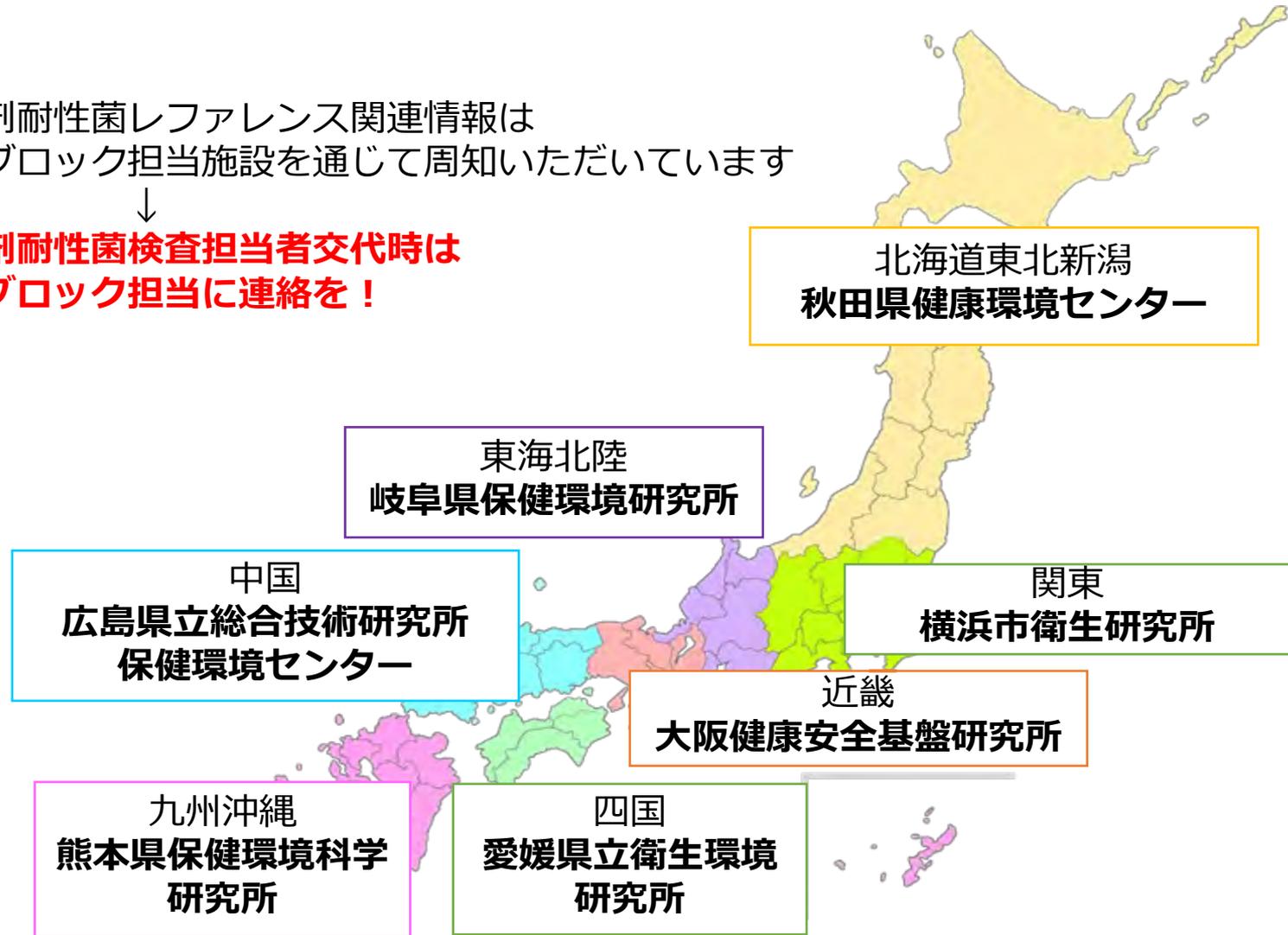
- ・AMED研究班 共同研究について
- ・薬剤耐性菌レファレンス活動に関する意見・要望など

薬剤耐性菌 レファレンス担当施設

薬剤耐性菌レファレンス関連情報は
各ブロック担当施設を通じて周知いただいています



**薬剤耐性菌検査担当者交代時は
各ブロック担当に連絡を！**



今年度の活動計画①

陽性コントロールDNA一斉配布

- 陽性コントロールDNA一斉配布

カルバペネム耐性腸内細菌目細菌 (CRE)

バンコマイシン耐性腸球菌 (VRE)

薬剤耐性アシネトバクター (MDRA) 検査用

*内容物は令和5年度と同一遺伝子型 ↓

陽性コントロールDNAセット



カルバペネマーゼ遺伝子 (12種)	IMP-1型 (IMP-1、IMP-6の2種)、IMP-2型、NDM型、KPC型、OXA-48型、VIM-2型、GES型、IMI型、KHM型、SMB型、FRI型
基質拡張型 β-ラクタマーゼ遺伝子 (6種)	TEM型、SHV型、CTX-M-1グループ、CTX-M-2グループ、CTX-M-8グループ、CTX-M-9グループ
AmpC β-ラクタマーゼ遺伝子 (6種)	MOX型、CIT型、DHA型、ACC型、EBC型、FOX型
van遺伝子及びddl遺伝子 (6種)	vanA、vanB、vanC1、vanC2/3、ddl (<i>Enterococcus faecium</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> の2種)
OXA型カルバペネマーゼ遺伝子 (5種)	OXA-51-like、OXA-23-like、OXA-58-like、OXA-24-like、ISAb1

現在 各ブロックのレファレンス担当施設を通じて、送付希望申込み中
(感染研締め切り7/12)



7月末頃 感染研より、送付希望施設へ発送予定

今年度の活動計画②

薬剤耐性菌検査に関する研修予定

	基本コース（初心者向け） 2.5日間	アップデートコース（経験者向け） 1日間
日時	2024年9月25日（水） 9:00-18:00 26日（木） 9:00-18:00 27日（金） 9:00-12:00	2024年10月8日（火） 9:30-17:00
場所	国立感染症研究所 村山庁舎 （講義のみZoomウェビナー聴講可）	Zoomウェビナー （国立感染症研究所 ハンセン庁舎参加可）
概要	<ul style="list-style-type: none"> ・ 講義及び実習 ・ 健感発0328第4号（平成29年3月28日）別添1～3の検査項目 ・ 薬剤感受性試験、薬剤耐性菌検査の基本 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 講義のみ ・ 薬剤耐性菌検査関連の情報アップデート 講義内容案 <ul style="list-style-type: none"> - 報告が稀な薬剤耐性遺伝子保有株の特徴 - タイピング解析いろは（演習あり） - 疫学アップデート - 新規抗菌薬とその薬剤感受性試験 ・ 外部講師の特別講演
対象者	原則、薬剤耐性菌研修基本コース 現地参加経験のない方	薬剤耐性菌検査実施経験のある方
人数	30名まで（感染研村山庁舎） （100名程度まで：ウェビナー）	200名程度まで（ウェビナー） （20名程度まで：感染研ハンセン庁舎）

案内・参加申し込みは各ブロックのレファレンス担当施設を通じて

実施要綱配布

衛微協後

参加申し込み締切

7月下旬～8月上旬頃を予定

参加決定案内

8月予定

今年度の活動計画②

薬剤耐性菌検査に関する研修 基本コース（初心者向け）

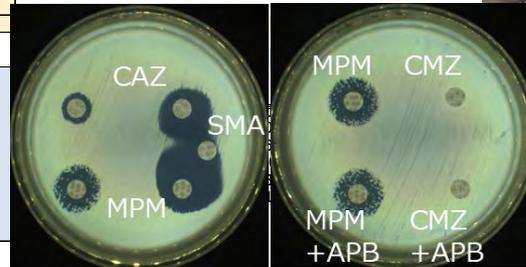
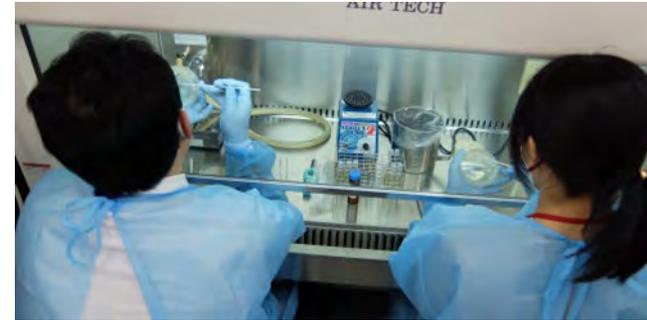
目的：薬剤耐性菌検査の基本知識及び検査技術の取得（対象：CRE, VRE, VRSA, MDRA, MDRP）

目標：平成29年通知に基づくカルバペネム耐性腸内細菌目細菌（CRE）を適切に検査報告できる

研修内容	場所（担当者）
9月26日（火）	
8:30～参加受付	
9 全体連絡	講義室（松井）
バイオセーフティ講習	講義室（松井）
10 休憩	
☆あいさつ	講義室（Zoom音井センター長）
☆抗菌薬総論	講義室（鈴木里）
11 ☆薬剤耐性機構 β-ラクタマーゼを中心に	講義室（鈴木里）
12 昼食休憩	
13 実習室へ移動	
実習内容説明 薬剤感受性試験法	実習室（松井）
14 薬剤感受性試験 ・Etest ・ディスク拡散法 ・微量液体希釈法 ・寒天平板希釈法	実習室
16 休憩・講義室へ移動	
☆薬剤耐性菌検査法 （主にCREの検査について）	講義室（松井）
18 遅くとも18:00解散	

研修内容	場所（担当者）
確認テスト	
8:30開場	
9 確認テスト	講義室
☆CRE病原体サーベイランス	講義室（松井）
10 実習室へ移動	
薬剤感受性試験 結果判定 （グループワーク）	実習室
11 薬剤感受性試験解説	実習室
12 mCIM、CarbaNP実施	
13 昼食休憩	
☆VRE, MDRAの 疫学と検査法	講義室 （鈴木、松井）
☆CRE検査法（前日の復習）	講義室（松井）
15 実習内容説明	
CarbaNP判定	実習室
16 ディスク法 mCIM	実習室
17 VRE、MDRA結果観察	
18 遅くとも18:00解散 18:30～ 情報交流会（予定）	

研修内容	場所（担当者）
9月28日（木）	
8:30開場	
9 結果判定	実習室
報告書作成	実習室
10 結果解説	実習室
11 講義室へ移動	
☆NESID, JANISデータの 見方	講義室（鈴木里）
☆総括、あいさつ	講義室（鈴木里、松井）
遅くとも12:30解散	



講義（約6時間）：Zoom聴講可

実習（約10時間）：現地受講のみ



現地修了生には
参加証明書を発行



令和5年度 30施設30名参加

今年度の活動計画②

薬剤耐性菌検査に関する研修 アップデートコース

目的：薬剤耐性菌検査の疫学や検査技術に関する最新知識の取得（対象：CRE, VRE, VRSA, MDRA, MDRP）

目標：医療機関や保健所が実施する薬剤耐性菌対策に対して、病原体試験解析担当者として専門的な支援・助言が可能になること。地域における薬剤耐性菌の調査研究を実施。

	9:30～ あいさつ
	9:45～11:00
10	検査法アップデート (報告が稀な耐性遺伝子の特徴など)
11	11:00～12:00 タイピングのいろは (演習あり)
12	昼食休憩
13	13:00～13:30 タイピング演習解説
	13:30～14:15 疫学アップデート
14	14:20～15:00 新規抗菌薬
15	休憩
	15:30～16:30 特別講演
16	16:30～17:00 まとめ、あいさつ

← 令和6年度タイムテーブル案（右は事前にいただいた要望）

- ・ 稀な遺伝子型株の特徴、検査問い合わせの多い内容
- ・ カルバペネマーゼ遺伝子全長配列決定方法
- ・ CRE検査に関する疑問点解説
 - SMAディスク判定困難例
 - 医療機関と同定菌種名が異なる場合の対応

- ・ CREを中心に（可能であればVRE,MDRA)薬剤耐性菌の全ゲノム解析についての概論
- ・ 院内・地域内感染が疑われる事例で行政検査として実施する際に抑えておくべきポイント

- ・ セフィデロコル耐性について、地方衛生研究所でできる検査
- ・ セフィデロコルの薬剤感受性試験で難しいポイントは？

CRE等検査に関する疑問点解説の
質問を募集予定です！

薬剤耐性菌の検査に関する研修体制

参加者アンケートでは、
ハイブリッド型研修・現地研修の希望は半々

ハイブリッド型研修のメリット

- ・ 旅費の心配がなく複数名参加可能
- ・ 自施設の試薬等を使用した検査結果の確認
→ 試薬の劣化の可能性判明、精度管理としての一面

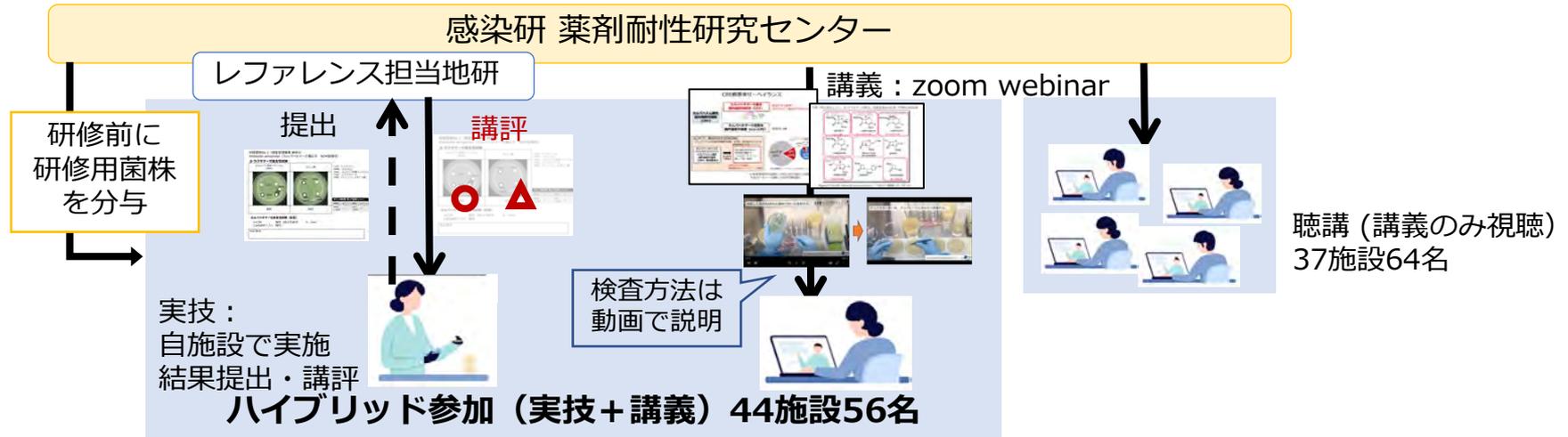
ハイブリッド型研修のデメリット

- ・ 経験者のいない施設にはハードルが高い
→ 現地研修の継続も必要

初心者の方、特に薬剤耐性菌
検査経験者のいない施設の方は
現地研修参加をおすすめします！！

Web講義配信は今年も継続します
業者のサポートをいれ、利便性向上予定
継続者講習としてご活用ください

令和4年度 ハイブリッド型研修 実技+講義、@自施設より参加（2日、受講・聴講 64施設121名）



CRE病原体サーベイランス集計還元

病原微生物検出情報（IASR）で還元 <https://www.niid.go.jp/niid/ja/iasr.html>

・ **2017年検体採取分 集計結果**

Vo.39, p162-163 (2018年9月号)

・ **2018年検体採取分 集計結果**

Vol.40, p157-158 (2019年9月号)

・ **海外型カルバペネマーゼ遺伝子検出株の増加**

Vol.40, p158-159 (2019年9月号)

・ **2019年検体採取分 集計結果**

Vol.42, p123-124 (2021年6月号)

・ **2020年検体採取分 集計結果**

Vol.43, p215-216 (2022年9月号)

・ **2021年検体採取分 集計結果**

Vol.44, p130-131 (2023年8月号)

・ **2022年検体採取分 集計結果** **NEW**

Vol.45, pXX (2024年7月号掲載予定)

・ **2023年検体採取分 集計作業中 → 病原体検出情報システム登録をお願いします**



今年度の活動計画④

薬剤耐性菌情報還元用ホームページ開設（9月頃～運用予定）



地方衛生研究所単位で

1アカウント発行（ID, パスワード）

*ただし、アカウント管理者1名登録、

アカウント情報は各所内の薬剤耐性菌検査担当者で共有可



使用用途

・ 感染研AMR ⇒ 全施設

薬剤耐性菌関連資料（研修資料等）
をアップし、随時ダウンロード可能

・ 感染研AMR ⇔ 個別の地研

ゲノムデータ等、個別の試験解析結果を共有

各ブロックのレファレンス担当施設を通じて
アカウント管理者情報登録のお願い（部署名、メールアドレス←可能な限り個人アドレス）



8月末頃、感染研より初期アカウント情報のお知らせ（アカウント管理者宛にメール）

薬剤耐性菌検査に関する情報提供
①CRE病原体サーベイランス情報還元

CRE病原体サーベイランス2022年検体採取株の検査数と陽性数

		検体採取期間	2022年1～12月 (n=1,426)			
		検査項目	検査実施 機関数*	検査実施株数 (%)	陽性数 (%**)	
原則 実施	遺伝子 検査	IMP型	74	1,426 (100.0)	173	(12.1)
		NDM型	74	1,426 (100.0)	33	(2.3)
		KPC型	74	1,426 (100.0)	2	(0.1)
		OXA-48型	74	1,426 (100.0)	2	(0.1)
	表現 型 検査	メタロ-β-ラクタマーゼ試験	74	1,426 (100.0)	206	(14.4)
		ボロン酸試験	74	1,426 (100.0)	230	(16.1)
推奨	遺伝子 検査	VIM型	62	1,165 (81.7)	0	(0.0)
		GES型	61	1,157 (81.1)	2	(0.2)
		IMI型	31	373 (26.2)	0	(0.0)
		KHM型	30	431 (30.2)	0	(0.0)
		SMB型	27	327 (22.9)	0	(0.0)
	表現 型 検査	Carba NP test***	15	241 (16.9)	40	(16.6)
		CIM***	47	673 (47.2)	117	(17.4)
いずれかのカルバペネマーゼ遺伝子陽性			1,426	212	(14.9)	

* その検査項目結果を1株でも報告した検査実施機関数、検査項目は2017年3月通知（健感発0328第4号）に基づく

** 検査実施株数に対する陽性率 (%)

*** CarbaNP test, CIMの少なくとも一方が実施された株は52施設831株（全体の58.3 %）、カルバペネマーゼ遺伝子非検出株に絞ると 51施設 698株（非検出株の57.5 %）

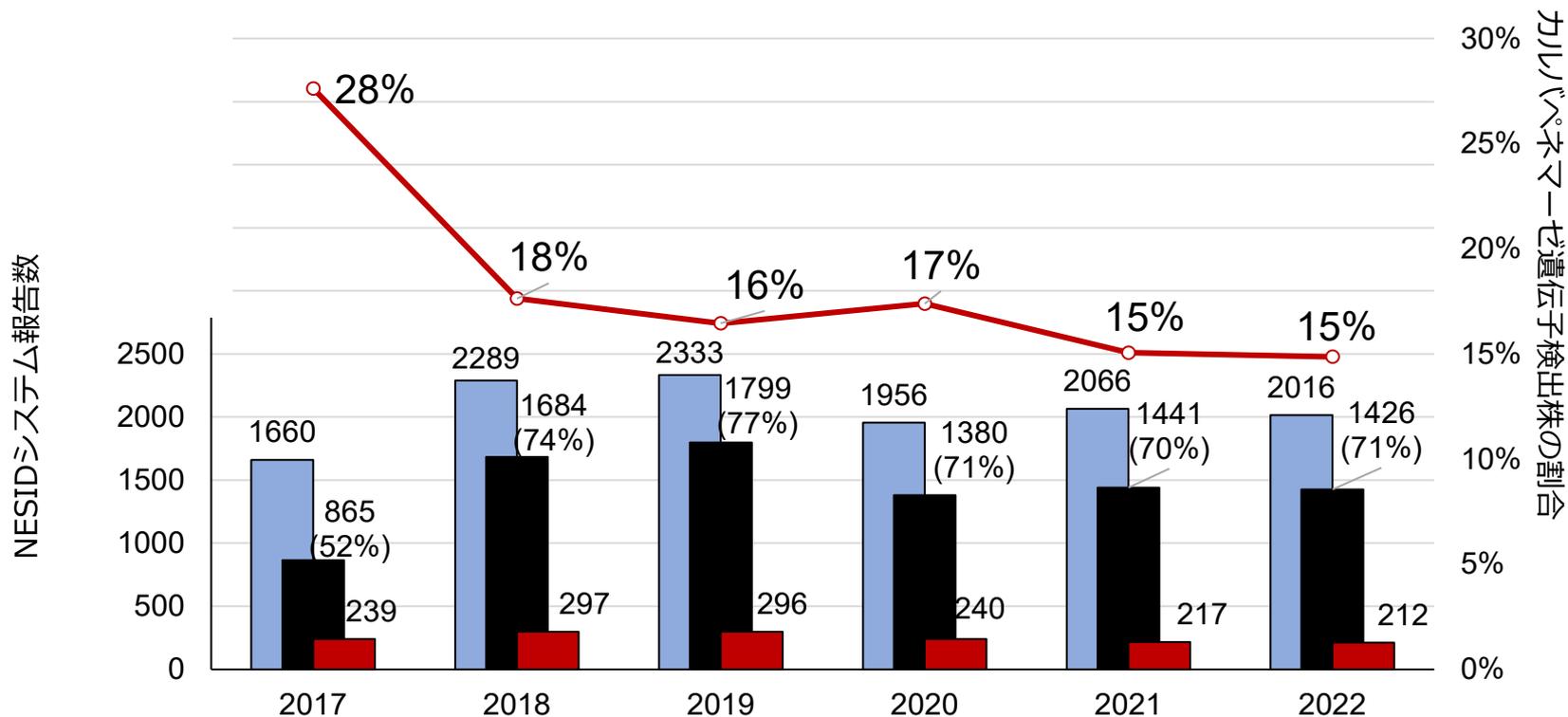
CRE病原体サーベイランス、カルバペネマーゼ遺伝子検出株の推移

■ CRE感染症届出患者数

■ CRE病原体報告株数（報告率）

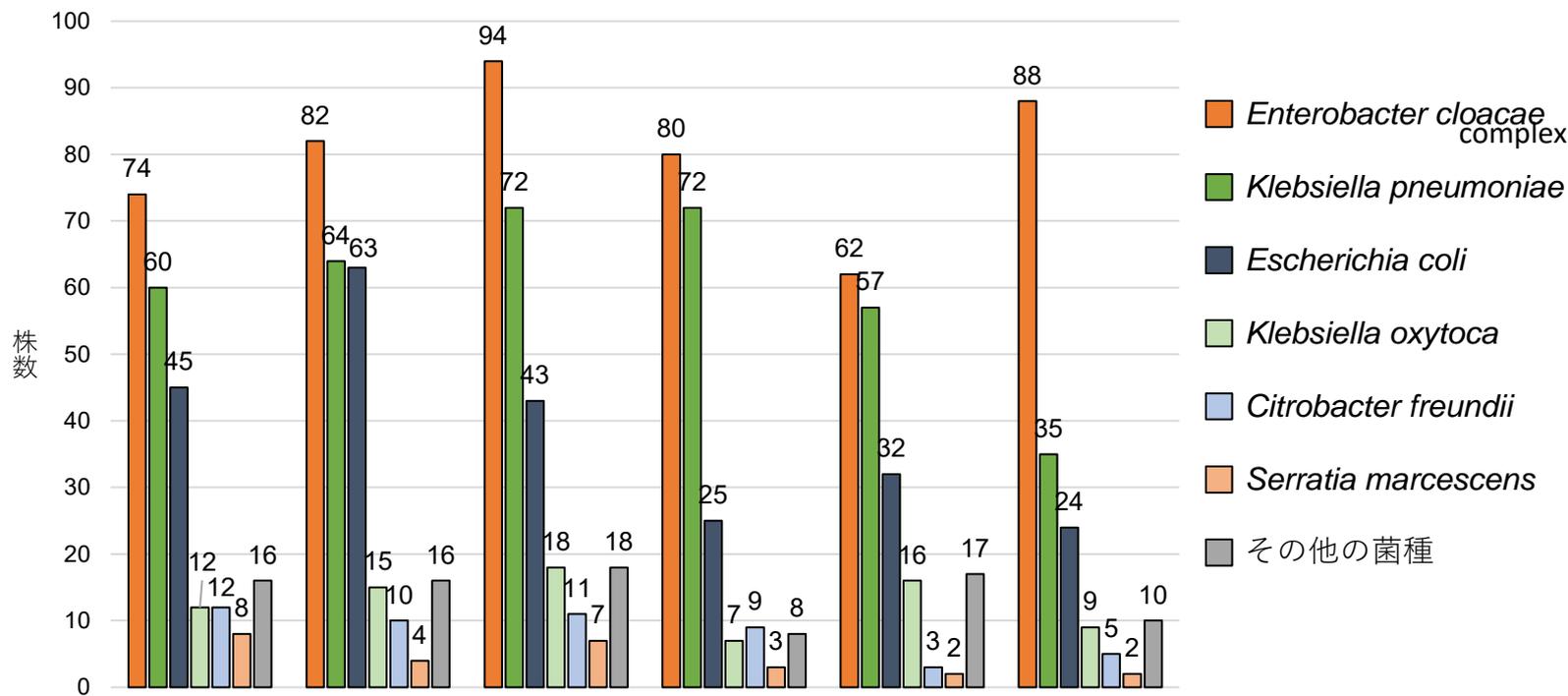
■ カルバペネマーゼ遺伝子検出株数

○— カルバペネマーゼ遺伝子検出株の割合



カルバペネマーゼ遺伝子検出株の割合は少しずつ減少
2022年はこれまでで最も低い（14.9%）

CRE病原体サーベイランス、IMP型陽性株の菌種別報告数



検体採取年	2017	2018	2019	2020	2021	2022
CRE病原体報告株数	865	1684	1799	1380	1441	1426
IMP型陽性株数	227	254	263	204	189	173
CRE病原体報告株数に対するIMP型陽性株 (%)	26.2 %	15.1 %	14.6 %	14.8 %	13.1 %	12.1 %

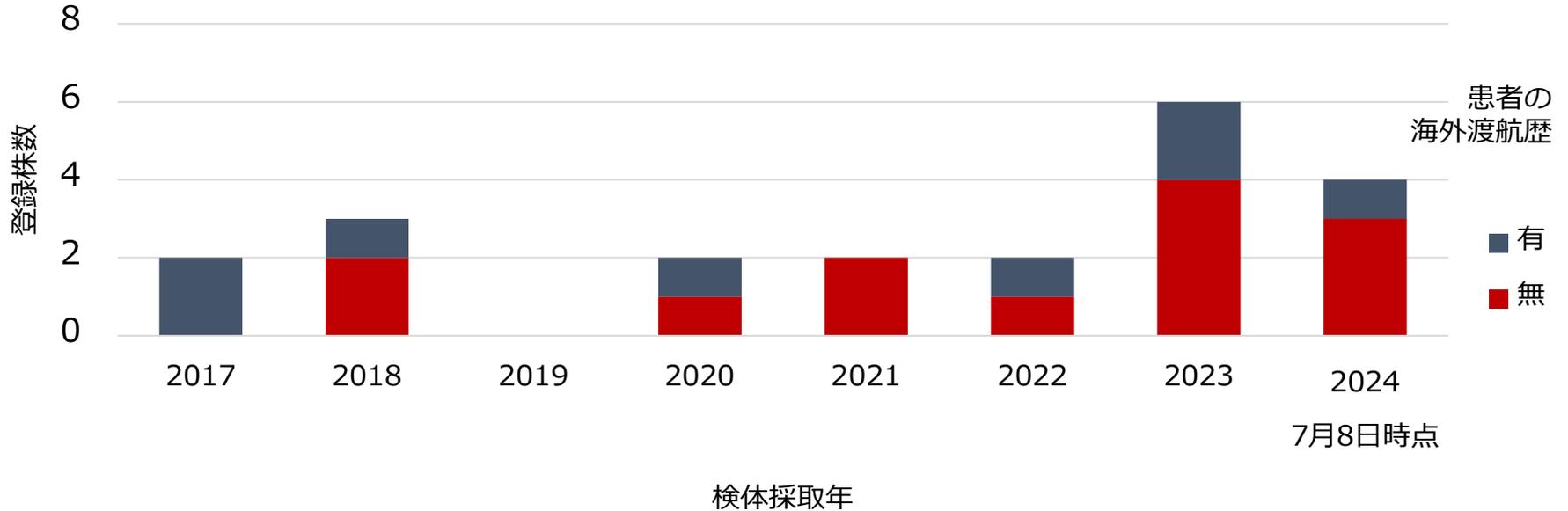
IASR
2024年7月号予定

IMP型メタロ-β-ラクタマーゼ遺伝子陽性株の割合は減少傾向、菌種内訳に変化
 → 病原体サーベイランスの継続実施の成果！
 全国的かつ継続的なサーベイランスの重要性を示すデータ

OXA-48型カルバペネマーゼ遺伝子陽性株増加傾向

CRE病原体サーベイランス OXA-48型陽性株

(CRE感染症届出患者分離株のみ, n=21)



菌種内訳

<i>Escherichia coli</i>	n=11
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	n=9
<i>Serratia marcescens</i>	n=1

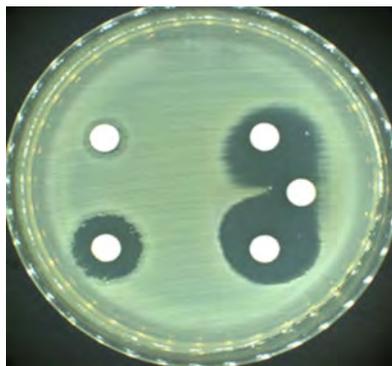
2024年7月8日時点暫定データ

薬剤耐性菌検査に関する情報提供
②CRE検査における確認事項

情報提供②CRE検査における確認事項 ディスク法検査方法再確認のお願い

- 菌液の塗り方

隙間のないように丁寧に



- ディスクの置き方

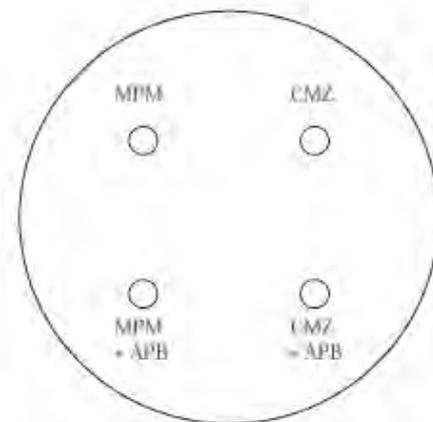
テンプレート (→) を使用して目線を一定に置く

- 培地の厚さは適切？

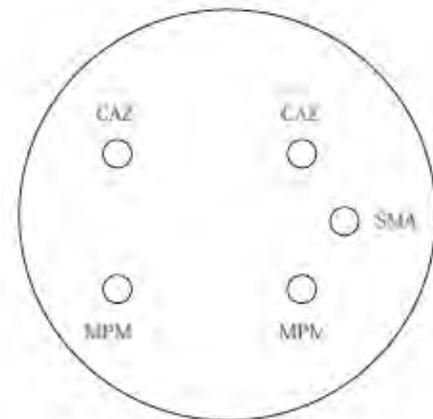
厚さ4 mm

- ディスクの期限・保存条件はOK？

A.



B.



病原体検出マニュアル
カルバペネム耐性腸内細菌目細菌 (CRE) 改訂予定

情報提供②CRE検査における確認事項

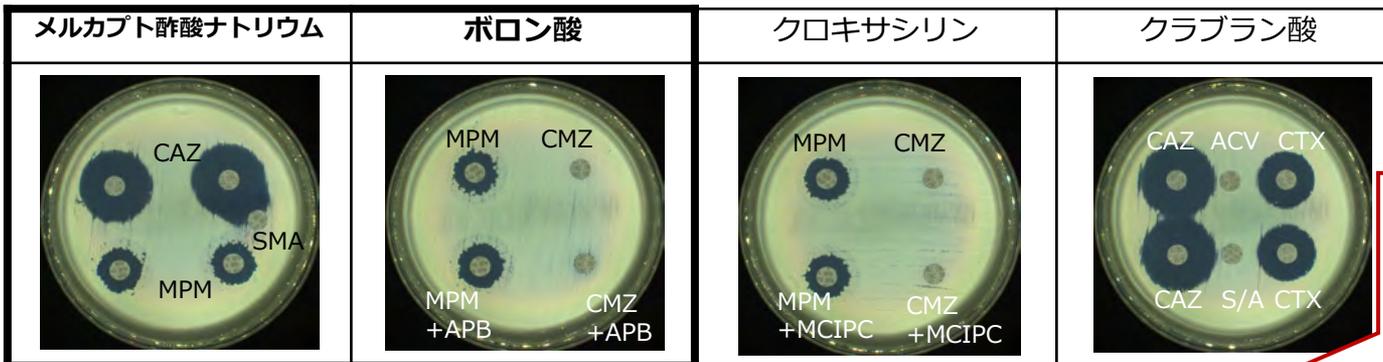
OXA-48型カルバペネマーゼ産生菌に注意

令和5年度研修菌株 No.4

令和元年度精度管理事業 検体D 菌種：*Escherichia coli*

CRE判定基準を満たす薬剤：MicroScan なし（CREと判定されない）
Vitek2 メロペネム・イミペネムとセフメタゾール

カルバペネム
MIC低いこと
がある



陰性

陰性

(MPM+APB)-MPM=14-13=1 mm
(CMZ+APB)-CMZ=6-6=0 mm

陰性

(MPM+MCIPC)-MPM=13-13=0 mm
(CMZ+MCIPC)-CMZ=6-6=0 mm

陰性

OXA-48型の
阻害剤はない
=ディスク法から
の推測困難

カルバペネマーゼ遺伝子		カルバペネマーゼ以外のβ-ラクタマーゼ遺伝子	
IMP型	-	CTX-M-1 group	-
NDM型	-	CTX-M-2 group	-
KPC型	-	CTX-M-9 group	-
OXA-48型	+	MOX型	-
VIM型	-	CIT型	-
GES型	-	DHA型	-
IMI型	-	ACC型	-
KHM型	-	EBC型	-
SMB型	-	FOX型	-
FRI型	-		

略号

CAZ：セフトアジウム、MPM：メロペネム、CMZ：セフメタゾール、CTX：セフトキシム
SMA：メルカプト酢酸ナトリウム、APB：アミノフェニルボロン酸、MCIPC：クロキサシリン、
ACV：クラブラン酸、S/A：スルバクタム/アンピシリン

Carba NP test 陰性

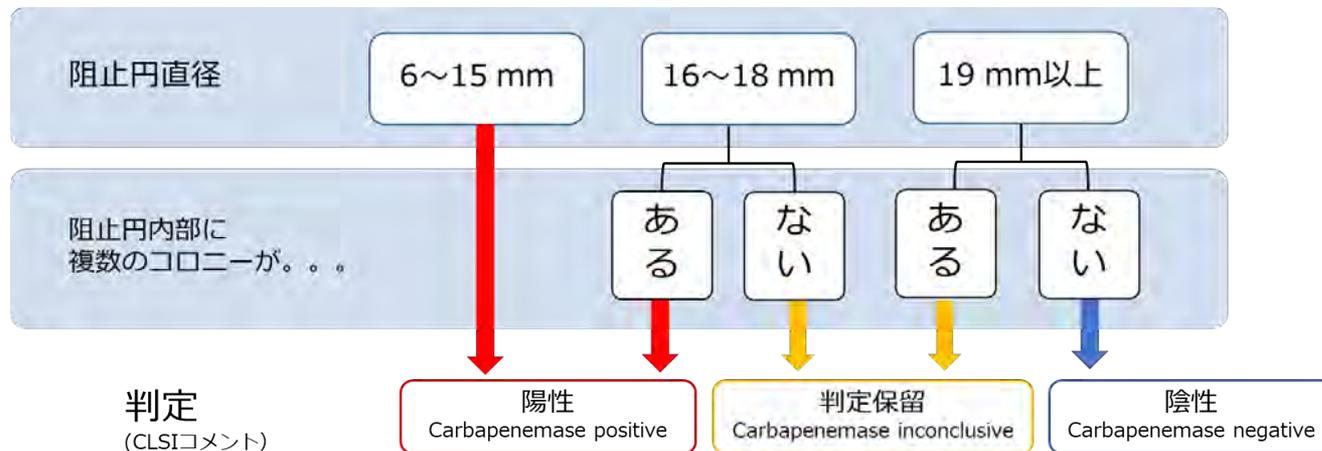
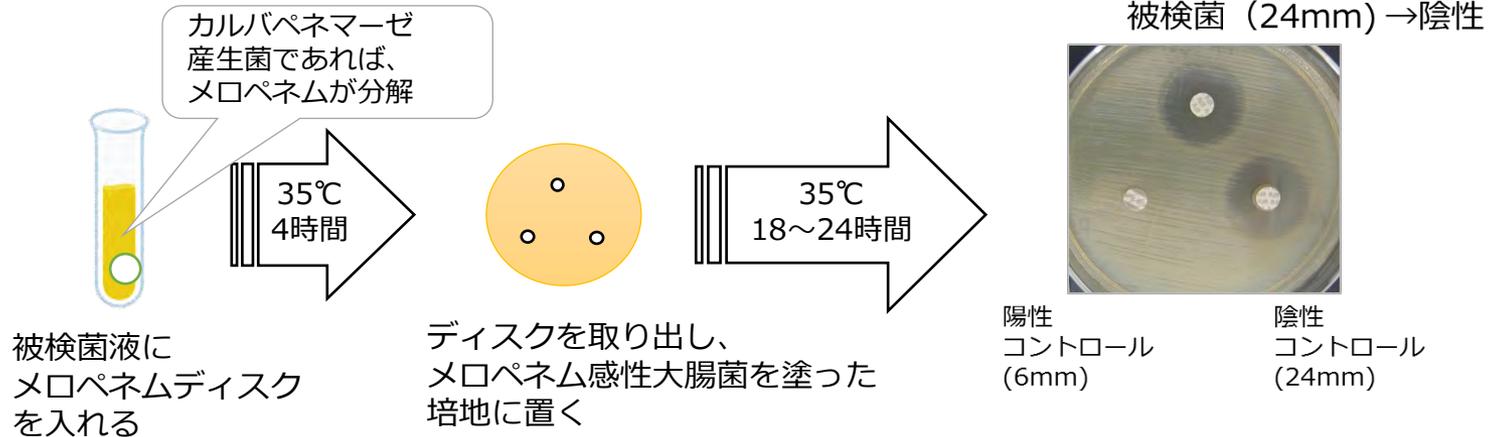
mCIM 陽性（阻止円直径 6mm）

・β-ラクタマーゼ遺伝子シーケンス結果は *bla*_{OXA-181}
・OXA-48型カルバペネマーゼ産生株は、阻害剤を用いたディスク法では鑑別困難（OXA型の明確な阻害剤なし）。カルバペネマーゼ産生性試験でも陰性と判定されることがある。遺伝子検査が必須

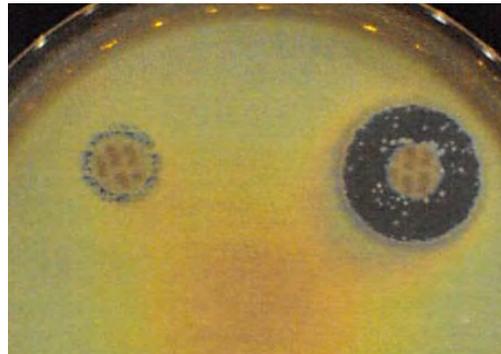
mCIM結果確認
CarbaNP偽陰性
になることあり

**mCIM 明確な陽性（≤10mm）かつ カルバペネマーゼ遺伝子陰性
→ PCR等 要再検査（マルチ/シングルPCRを併用するなど）
判定解釈困難な場合はご連絡ください！**

情報提供②CRE検査における確認事項 カルバペネマーゼ産生性試験、mCIM



陽性
6mm

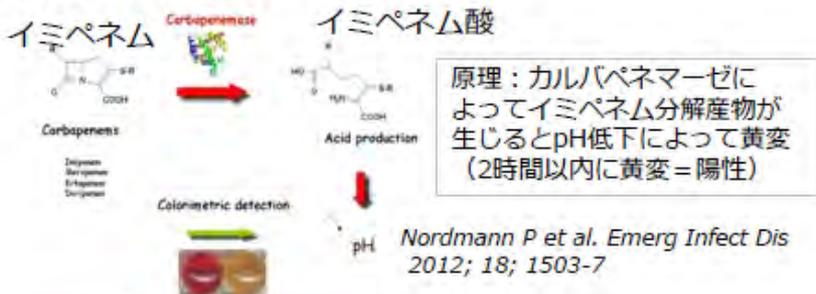


陽性
17mm
内部コロニーあり

情報提供②CRE検査における確認事項 カルバペネマーゼ産生性試験の注意点

遺伝子検査結果の裏付け、遺伝子検査で補足しきれないカルバペネマーゼ産生株の確認に有用
(手順は、病原体検出マニュアル 薬剤耐性菌Ver2.0 p42-45)

CarbaNP test



メリット
迅速(2時間以内)判定可能

デメリット
自家調整試薬はpH調整必要、基質のイミペネムがやや高価
OXA-48型、GES型は、偽陰性となりうる

**特異度高い
CarbaNP陽性
=カルバペネマーゼ産生**

modified Carbapenem Inactivation Method (mCIM)



メリット
手間、コストの面から導入しやすい

デメリット
*Enterobacter*属 AmpC過剰産生株での偽陽性報告あり

**感度高い
見落とし防ぐ役割
特に明確な陽性の場合
はカルバペネマーゼ産生**

第32回日本臨床微生物学会
2021年1月28日~1月30日
カルバペネマーゼ産生性確認試験で陽性を示す、AmpC β-ラクタマーゼ遺伝子 *bla_{ACT-28}* 保有 *Enterobacter cloacae* complex について

◎坂本 高之、里玉 洋江、柳 美見、谷村 隆夫、金戸 嘉子、木村 恵梨子、松井 真理、鈴木 里和、岩井 基行

石川県立病院センター、石川県立中央病院検査センター、国立感染症研究所薬剤耐性研究センター

E. kobei ST125

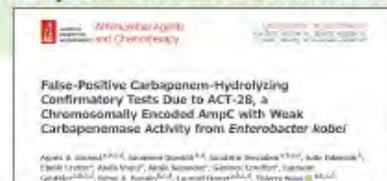
P1-013 第33回日本臨床微生物学会
2022年1月28日~1月30日

カルバペネマーゼ産生性試験で偽陽性を示す *Enterobacter cloacae* complex 2株の解析

◎坂本 高之、小泉 充正、松井 真理、鈴木 里和、岩井 基行

横浜市衛生研究所微生物検査研究課、国立感染症研究所薬剤耐性研究センター

E. kobei ST125
Enterobacter roggenkampii ST1593



β-ラクタマーゼ遺伝子シーケンス

OXA-48型のバリエーション
OXA-48, -181, -232など

β-ラクタマーゼ遺伝子シーケンスによる型別

BLAST探索では誤った登録名の配列と一致することがある。
参照配列と比較して、結果を確定すること！

病原体検出マニュアル
薬剤耐性菌Ver2.0 p.38

得られた塩基配列を参照配列と比較し、アミノ酸配列が一致すればよい

	登録バリエーション (2023-8-08.2ver.*, 配列非公開含む)	主なバリエーション 参照配列のGenBank Accession no.
IMP型	<i>bla</i> _{IMP-1} ~ <i>bla</i> _{IMP-100}	<i>bla</i> _{IMP-1} ⇒ S71932 (NG049172) <i>bla</i> _{IMP-6} ⇒ AB040994 (NG049220)
NDM型	<i>bla</i> _{NDM-1} ~ <i>bla</i> _{NDM-60}	<i>bla</i> _{NDM-1} ⇒ FN396876 (NG049326) <i>bla</i> _{NDM-5} ⇒ JN104597 (NG049337)
KPC型	<i>bla</i> _{KPC-2} ~ <i>bla</i> _{KPC-184}	<i>bla</i> _{KPC-2} ⇒ AY034847 (NG049253)
OXA-48型	<i>bla</i> _{OXA-48} , <i>bla</i> _{OXA-181} など	<i>bla</i> _{OXA-48} ⇒ AY236073 (NG049762) <i>bla</i> _{OXA-181} ⇒ JN205800 (NG049482)
GES型	<i>bla</i> _{GES-1} ~ <i>bla</i> _{GES-59} (カルバペネマーゼは一部のみ)	<i>bla</i> _{GES-5} ⇒ AY494717 (NG049137) <i>bla</i> _{GES-24} ⇒ AB901141 (NG049127)

遺伝子検出結果の書き方

PCRのみ ⇒ IMP型

シーケンス型別 ⇒IMP-1, IMP-6
(型は不要)

IMP型全長シーケンス方法、プライマー

Jpn J Infect Dis. 2021 Nov 22;74(6):592-599.

Jpn J Infect Dis, 74, 592-599, 2021

Method

Subtype Screening of *bla*_{IMP} Genes Using Bipartite Primers for DNA Sequencing

Ryuji Kawahara¹, Masanori Watahiki^{2*}, Yuko Matsumoto², Kazuru Uchida², Makiko Noda³, Kanako Masuda⁴, Chiemi Fukuda⁵, Yuki Abe¹, Yukiko Asano¹, Kazumori Oishi², Keigo Shibayama¹, and Hiroto Shinomiya¹

12. 寄生虫

レファレンスセンター等関連会議

寄生虫

世話人：永宗喜三郎(感染研・寄生動物)

レファレンスセンター活動・寄生虫

- ・各ブロックの拠点となる地研は指定していない。
- ・課題となる寄生虫を選び、関連の地研・検疫所とメーリングリストを利用して情報交換(研修)。

・課題の寄生虫

- (1) 4類 マラリア, エキノコックス **(感染症法)**
- (2) 5類 クリプトスポリジウム, ジアルジア, 赤痢アメーバ

-
- (3) 食品媒介寄生虫 **(食品衛生法)**

クドア, サルコシスティス, アニサキス等

食中毒事件票・病因物質の種別

レファレンスセンター等関連会議：寄生虫

話題の提供と情報交換（演者・所属：敬称略）。

A. アニサキス

「アニサキス症～現状と今後の展望～」

（下川周子・感染研）

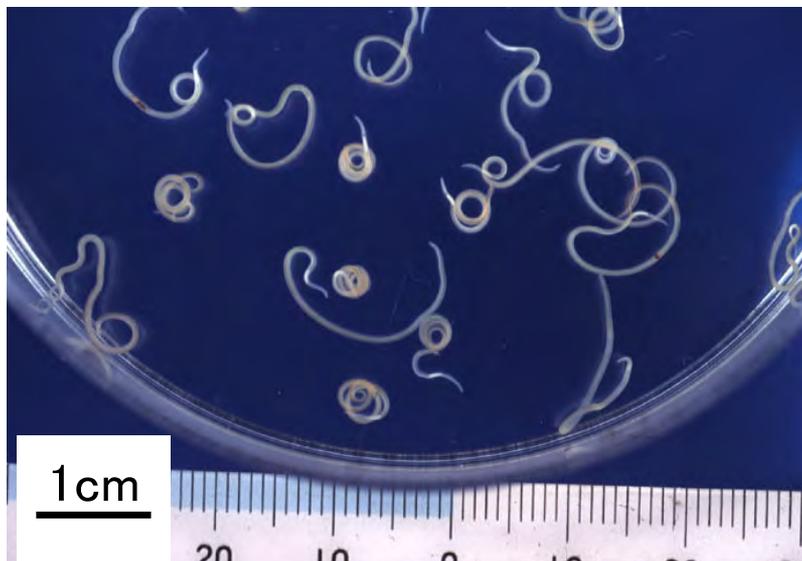
B. 腸管寄生原虫

「消化管寄生原虫類の実践的検査法の普及による
検査体制の強化—令和5年度調査報告」

（八木田健司・感染研）

アニサキス症～現状と今後の展望～

-  アニサキスによる食中毒件数は6年連続第一位
-  黒潮の蛇行による、原因魚種の変化
-  アニサキスの診断、予防方法、食品衛生法における取り扱いについて
-  アレルギーとしてのアニサキス症
-  アニサキスアレルギー研究の最新の知見



〒162-8640

東京都新宿区戸山1-23-1

Tel 03-5285-1111

Mail: info@nih.go.jp

国立感染症研究所・寄生動物部・第二室

下川 周子

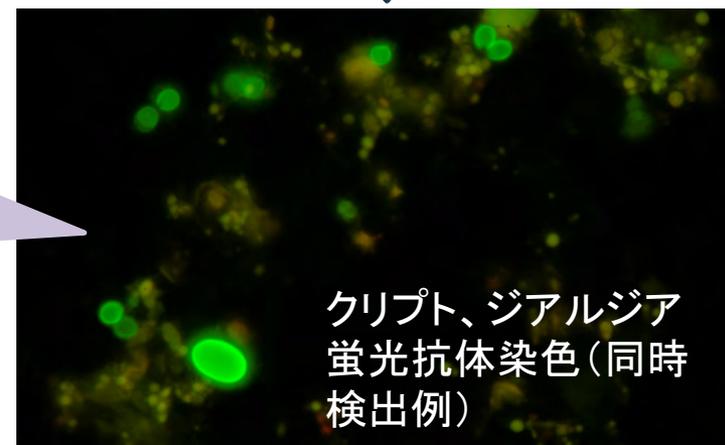
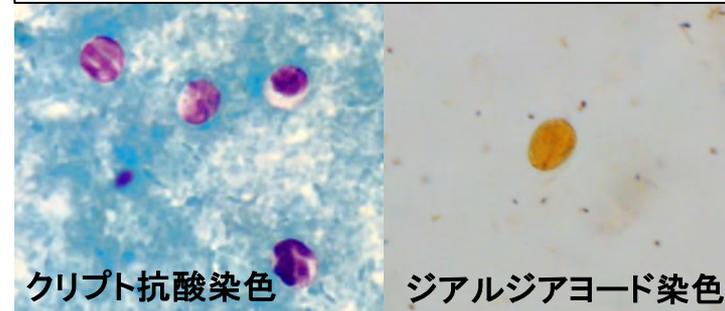
(しもかわ ちかこ)

消化管寄生原虫類の実践的検査法の普及による検査体制の強化

国立感染症研究所 寄生動物部
八木田健司

- 消化管寄生原虫症であるジアルジア症及びクリプトスポリジウム症は5類感染症。**国が行う感染症発生動向調査の結果に基づいた対策が求められる**
- その基盤となる**簡便・確実な実践的検査法**として、R4-5年度の2年間、のべ全国23地研と協力して、**蛍光抗体染色法の有用性を評価**（令和4、5年度 厚労省新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業-宮崎班）
- **迅速・簡便で即応性のある実践的検査法としての実用性が評価された。来年度も継続**
- **地研での導入を推進、今後求められる地研の原虫検査機能の強化に結び付ける**

従来法(迅速・簡便性、特異性に欠ける)



試料と抗体混ぜて15分で観察。各原虫特異的モノクロー抗体と長寿命蛍光標識に Dylight488 を使用

【研究・検査に関するご質問・ご相談】



レファレンスセンター等関連会議

寄生虫

世話人：**永宗喜三郎**(感染研・寄生動物)

地研に寄生虫に関する問い合わせや検査の依頼があれば、是非引き受けて下さい。感染研・寄生動物部にその内容をご照会下さい。対応にご協力します。

14. アデノウイルス

衛生微生物技術協議会第44回研究会

アデノウイルス レファレンスセンター会議

日時 令和6年7月10日（水）

11時～12時

402会議室

地方衛生研究所

国立感染症研究所

感染症危機管理研究センター第4室

花岡 高橋



CEPR

感染症危機管理研究センター
Center for Emergency Preparedness and Response

参加者の確認と出席確認

国立感染症研究所 感染症危機管理研究センター 第4室
花岡希、高橋健一郎

<地区ブロック代表：議決権有>

- | | |
|----------------|-------------------|
| ・青森県衛生研究所 | 岩館樹里 先生（代理）坂恭平 先生 |
| ・新潟県保健環境科学研究所 | 青木順子 先生 |
| ・東京都健康安全研究センター | 高橋久美子 先生 |
| ・大阪健康安全基盤研究所 | 廣井聡 先生 |
| ・広島市衛生研究所 | 山木戸聡 先生 |
| ・福井県衛生環境センター | 高橋美帆 先生 |
| ・熊本県保健環境科学研究所 | 笠純華 先生（代理）徳岡先生 |

多くの先生方に参加していただきました。
会場の席が足りず申し訳ありませんでした。

会議次第

【開会】

司会：世話人花岡希 注意事項等、地区代表の先生方の参加確認

【議事】

1. アデノウイルスレファレンスセンターの構成、現状確認--花岡5分

2. アデノウイルスレファレンス方針案（NESID登録案）--決議・花岡・地区代表-10分

3. ICTV種名変更と和名使用方針案-決議・決議・花岡・地区代表-10分

4. 各ブロック報告 各5分 ~30分--- 取りまとめて共有します。

・青森県衛生研究所

岩館 樹里 先生（代理）坂恭平 先生

・新潟県保健環境科学研究所

青木順子 先生

・東京都健康安全研究センター

高橋 久美子 先生

・大阪健康安全基盤研究所

廣井聡 先生

・広島市衛生研究所

山木戸聡 先生

・福井県衛生環境センター

高橋美帆 先生

・熊本県保健環境科学研究所

笠純華 先生

5. 参加者含めた全体での協議論。--10分



昨年度からの課題+確認事項

【NESID型登録に関して】

【制限】

- ・登録、選択できるデータの個数が99個まで。

【方針】

限られた資源を有効に活用する。



最低限必要な新型のみ登録可能にする。

毎年、追加候補をレファレンスセンター会議で決定する。

今年初め、

61、65、79、81、82、85、111型を追加した。

【ゲノム解析支援サイトに関して】

- ・基本情報は、掲載した。
- ・追加の操作説明など希望があれば、Zoom開催も可能

現在65使用。残り34.

Adenovirus - not typed

Adenovirus 1
Adenovirus 2
Adenovirus 3
Adenovirus 4
Adenovirus 5
Adenovirus 6
Adenovirus 7
Adenovirus 8
Adenovirus 9
Adenovirus 10
Adenovirus 11
Adenovirus 12
Adenovirus 13
Adenovirus 14
Adenovirus 15
Adenovirus 16
Adenovirus 17
Adenovirus 18
Adenovirus 19
Adenovirus 20
Adenovirus 21
Adenovirus 22
Adenovirus 23

Adenovirus 24
Adenovirus 25
Adenovirus 26
Adenovirus 27
Adenovirus 28
Adenovirus 29
Adenovirus 30
Adenovirus 31
Adenovirus 32
Adenovirus 33
Adenovirus 34
Adenovirus 34/35
Adenovirus 35
Adenovirus 36
Adenovirus 37
Adenovirus 38
Adenovirus 39
Adenovirus 40
Adenovirus 40/41
Adenovirus 41
Adenovirus 42
Adenovirus 43
Adenovirus 44
Adenovirus 45

Adenovirus 46
Adenovirus 47
Adenovirus 48
Adenovirus 49
Adenovirus 53
Adenovirus 54
Adenovirus 55
Adenovirus 56
Adenovirus 57
Adenovirus 61
Adenovirus 64 (19a)
Adenovirus 65
Adenovirus 79
Adenovirus 81
Adenovirus 85
Adenovirus 111
Adenovirus その他



裁決事項

・感染症発生動向調査：NESID 登録方針案

・マニュアルの改訂：型決定法の追加

→C種Fiber NestedPCR、シーケンス

F1_new agaccgtctgaagayaccttcaacc

R1_new tgggcmaatgtakgagarggtrtarg

F2_new kmtwactactracmamkggtag

R2_new tatcaaarctdarrcchgytcc

・Web説明会の開催。*12月下旬25.26.27?

・コミュニティとしての方針、主張、共有化に関して。

アデノウイルスワーキンググループが正常に機能していない？

HAdV Working Group



[Home](#) [About](#) [Background](#) [Criteria for a New HAdV Type](#) [Submit 'candidate' HAdV](#) [Serotyping Tool](#) [Tools](#) [Contacts](#)

Home

Human Adenovirus Working Group

As a service to the adenovirus research community, with the goals of coordinating and standardizing the process of assigning names to candidate novel human adenoviruses and reducing conflicts with names, the Human Adenovirus Working Group is a collaboration between adenoviral researchers and the National Center for Biotechnology Information (NIH)/GenBank.

This serves the purpose of avoiding duplicate genotype numbers (and retractions) in the literature and screening inappropriate candidates, such as laboratory constructs.

This is an on-going discussion in developing and refining typing criteria that is open to the adenovirus research community for input.

March, 2024 Update.

Note: Latest HAdV genotype number 116 has been assigned

Adenovirus	Name	Accession #	Year	Penton	Hexon	Fiber
Genotype			(Publication)	base		

登録状況調査の実施
ありがとうございました。

This is an on-going discussion in developing and refining typing criteria that is open to the adenovirus research community for input.

March, 2024 Update.

Note: Latest HAdV genotype number 116 has been assigned

Adenovirus	Name	Accession #	Year	Penton	Hexon	Fiber
Genotype			(Publication)	base		
HAdV-D116	P33H28F71	TBA	2024	33	28	71
HAdV-D115	P22H8F8	OR044915	2024	22	8	8
HAdV-B114	P7H3F3	OR853835	2023	7	3	3
HAdV-D113	P20H42F42	MW694832	2021	20	42	42
HAdV-D112	P112H12F67	TBA	2018	112	112	67

NCBIと連携されており、新型登録にはHAdV Working Groupの承認が必要

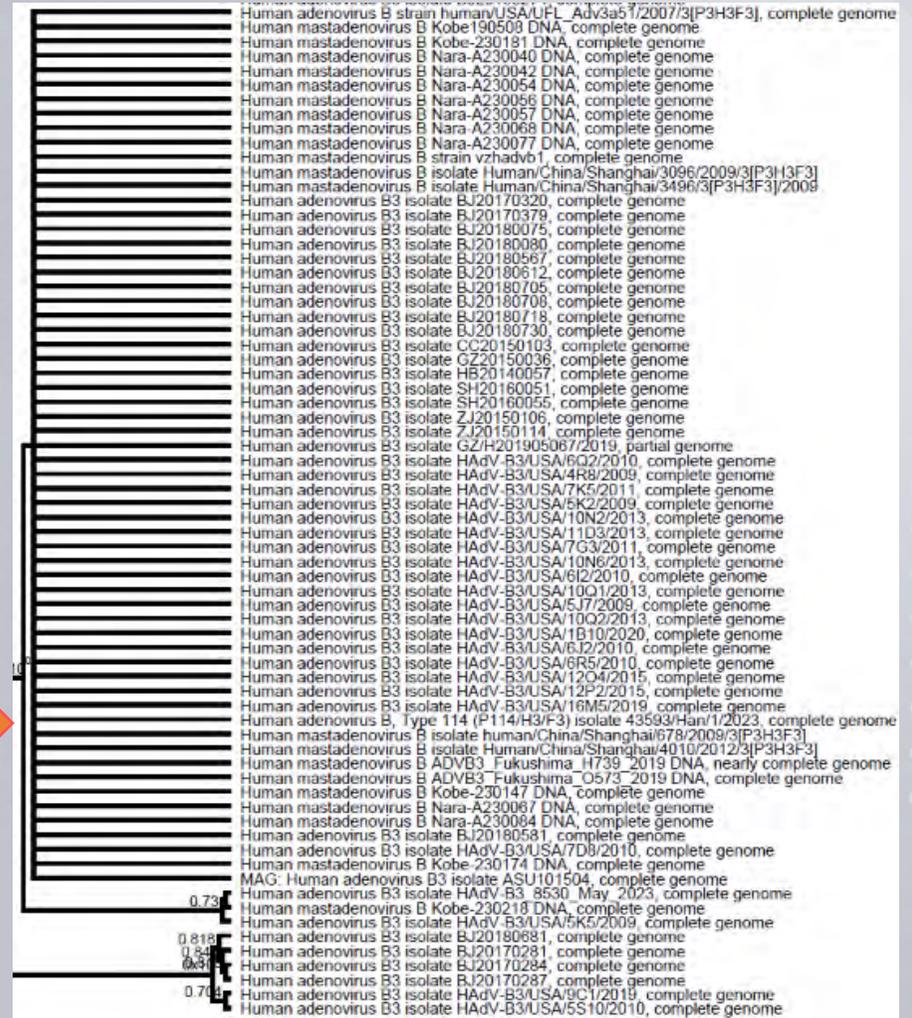
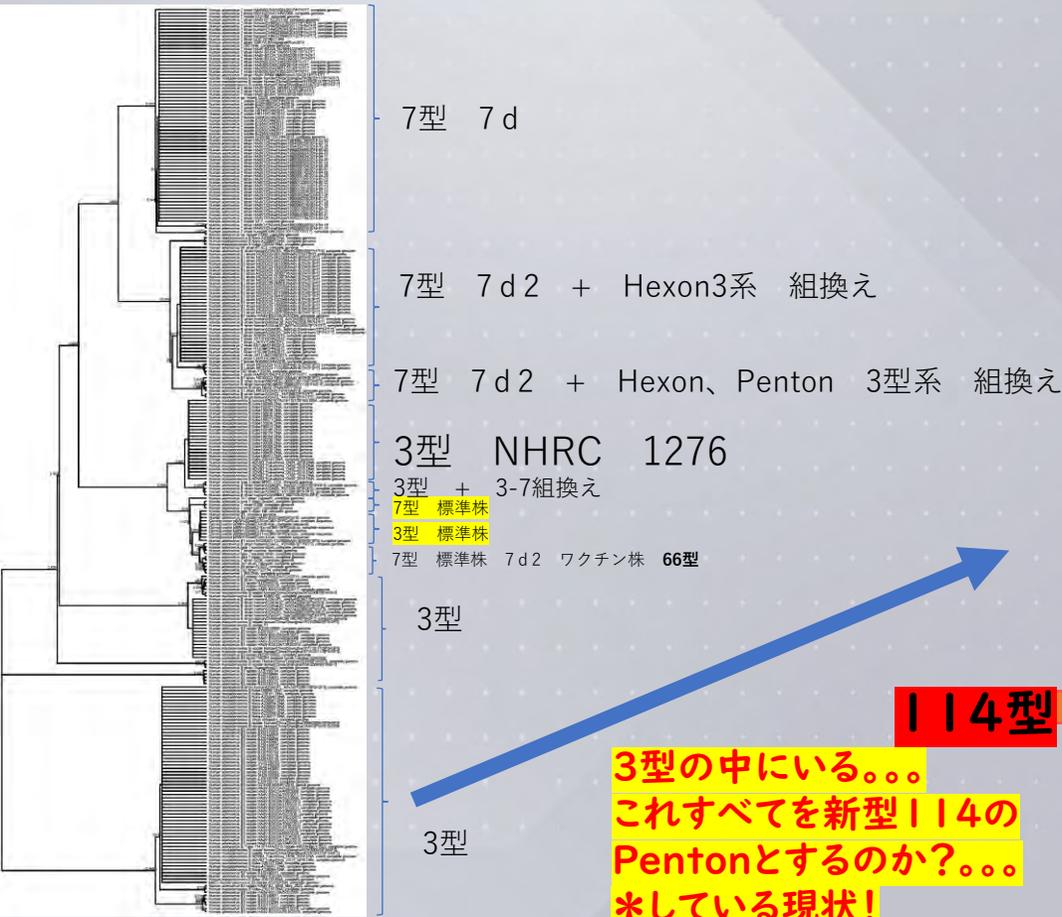
→2019年、2023年日本から登録依頼：回答無。の状況。
114型問題*当初Dで承認。2024に突然116型までアサイン。

参照No. OR853835 は、Penton7型ではない。

*現在Penton114型となっているが、3型と数塩基違いのため、新型とする根拠がない。*GeneBankではP:114になっている！ 66型が、Penton7としていることが、。

→Seto博士へと問い合わせたが、科学的根拠を持った回答は無

元来Pentonは7型では多様。3型標準株と7型標準株は近い。



114型

3型の中にある。。
 これすべてを新型114の
 Pentonとするのか?。。
 *している現状!

**P7H3F3は114型とする。:Ok 参照配列がだめ。
 登録時には要注意!!!サーベイランスで混乱が生じる!!!!!!**

114型の反論Letter作成中

ゲノム全体が3型と同一性が高い中での、7型標準株と同一のPentonであれば、P7H3F3。
 ゲノム全体が3型と同一性が高い中での、3型標準株とアミノ酸1欠失Pentonは3型!。これまでは。。。
 *逆も同様。

ワーキンググループに振り回されない確実なサーベイランスの実施

【概要】

- ・ NESID登録は登録可能な型優先で登録。
- ・ 型の判別はなるべく低ナンバー（110型以下）で判別すること。

【型の判別方法】

（ローカルブラスト的な考えで）

116型（要確認）までの参照用マルチファスタと（系統樹）を、完全長、ヘキソン、ペントン、ファイバー各ORFで用意し、提供



Local Blast的。 NCBI使用しない。

各ORFマルチファスタに、マニュアル掲載の解析領域をくわえる。



Mafft (<https://mafft.cbrc.jp/alignment/server/>) で、マルチアライメント-系統樹解析を実行。



マニュアル解析領域は、一番同一性の高い配列を持つ型と同じ枝内に分類されるので、その型をP,H,F各々に記載し、組換えであれば、**ワーキンググループ** (<http://hadvwg.gmu.edu/>) のリストを参照し、“NESID登録可能な型があれば、NESIDへそのまま登録”し、“NESID登録可能な型が無ければ、ヘキシソンの型を優先し、登録し、備考欄にPHFを表記する”

*マニュアルを改定。解析の解説に114型、66型は混乱が生じるので、3型とすると記載する。等記載する。

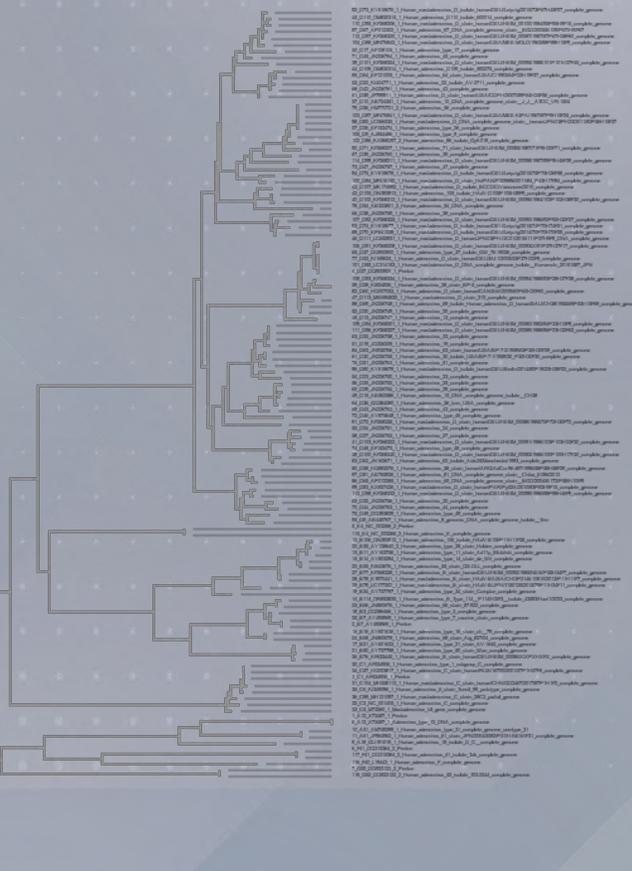
NCBI Blastでは判断しない。

方法

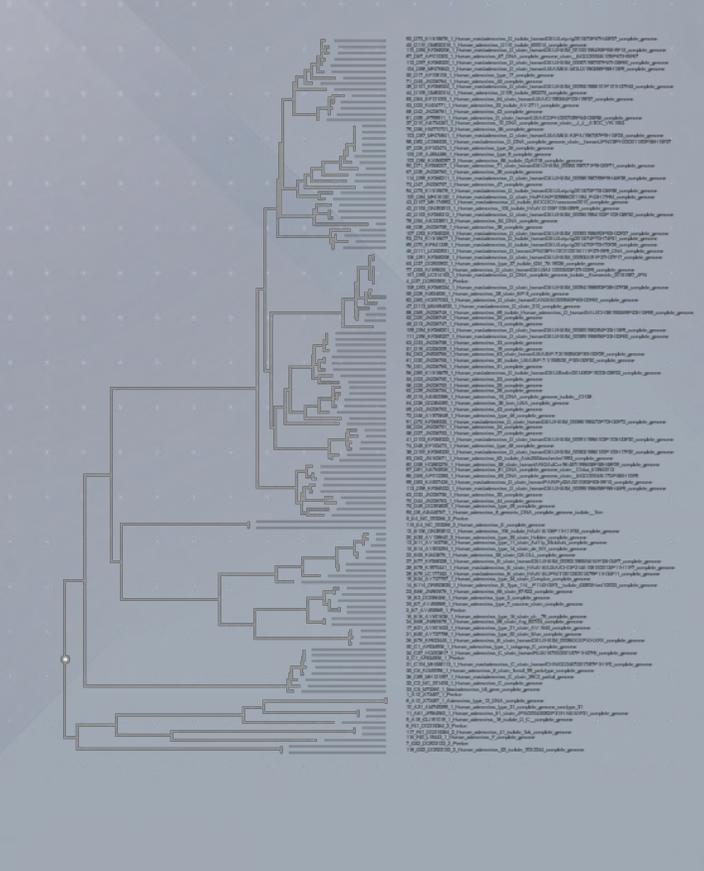
MAFFTは現在のところ、ウェブ版が公開されており、ネットワーク環境さえあれば、簡単に利用可能で、判別が可能

- ・ Blastでは、Blastを組み込む必要あるため、ひと手間かかる。
- ・ 色々解析できる先生方は、独自に実施していただいて構いません。
- ・ ゲノム解析の先生方には、NCBI, Genbank, DDBJは間違った登録情報が修正されずそのまま掲載され続けているので、注意が必要 ということは注意喚起する必要がある

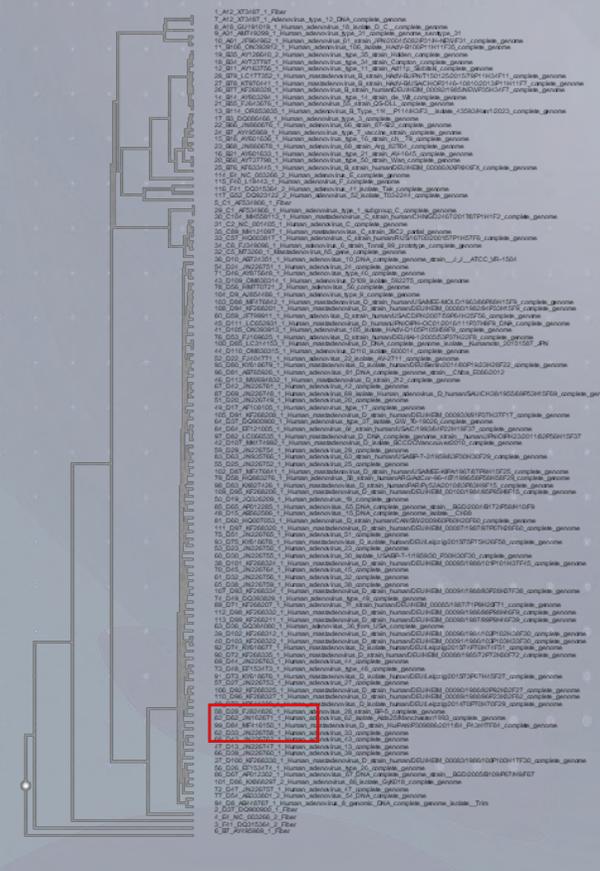
完全長III配列+ 主要な型Hexon(岡田法増幅領域)のNJ系統樹
 ※主要な型:A種I2型、B種7型、C種I型、D種37型、E種4型、F種4I型、G種52型
 HAdV20240621_Hexon_MAFFT.fasta



完全長III配列+ Penton(マニュアル法増幅領域)でのNJ系統樹
 ※主要な型:A種I2型、B種7型、C種I型、D種37型、E種4型、F種4I型、G種52型
 HAdV20240621_Penton_MAFFT.fasta



完全長III配列+ Fiber(マニュアル法増幅領域)でのNJ系統樹
 ※主要な型:A種I2型、B種7型、C種I型、D種37型、E種4型、F種4I型
 HAdV20240621_Fiber_MAFFT.fasta



マニュアルを改定し、方法の説明会を行う。
 あくまで、これまでの型判別法を踏襲しながら混乱をきたさないようにする**サーベイラ**
ンス実施方針(発生動向調査)であり、科学論文投稿に関する介入ではない!

PxxHxxFxx → HAdV- ☆:◎、 Accession:X。

March, 2024 Update.

Note: Latest HAdV genotype number 116 has been assigned

Adenovirus Genotype	Name	Accession #	Year (Publication)	Penton base	Hexon	Fiber
HAdV-D116	P33H28F71	TBA	2024	33	28	71
HAdV-D115	P22H8F8	OR044915	2024	22	8	8
HAdV-B114	P7H3F3	OR853835	2023	7	3	3
HAdV-D113	P20H42F42	MW694832	2021	20	42	42
HAdV-D112	P112H112F67	TBA	2018	112	112	67
HAdV-D111	P37H9F9	LC652931	2016	37	9	9
HAdV-D110	P67/H110/F9	OM830315	2018	67	110	9
HAdV-D109	P22/H19/F9	OM830314	2018	22	19	9
HAdV-C108	P1H2F2	N/A	2014	1	2	2

ウイルス学的名称の変更に関して分類の変更

2024年6月10日時点

Wikipediaより

	<i>Mastadenovirus</i>
	Virus classification 
(unranked):	Virus
Realm:	Varidnaviria
Kingdom:	Bamfordvirae
Phylum:	Preplasmiviricota
Class:	Tectiliviricetes
Order:	Rowavirales
Family:	Adenoviridae
Genus:	<i>Mastadenovirus</i>
	Species
	see text

Taxonomy [edit]

The genus contains the following species:^[6]

- *Bat mastadenovirus A*
- *Bat mastadenovirus B*
- *Bat mastadenovirus C*
- *Bat mastadenovirus D*
- *Bat mastadenovirus E*
- *Bat mastadenovirus F*
- *Bat mastadenovirus G*
- *Bat mastadenovirus H*
- *Bat mastadenovirus I*
- *Bat mastadenovirus J*
- *Bovine mastadenovirus A*
- *Bovine mastadenovirus B*
- *Bovine mastadenovirus C*
- *Canine mastadenovirus A*
- *Deer mastadenovirus B*
- *Dolphin mastadenovirus A*
- *Dolphin mastadenovirus B*
- *Equine mastadenovirus A*
- *Equine mastadenovirus B*
- *Guinea pig mastadenovirus A*
- *Human mastadenovirus A*
- *Human mastadenovirus B*
- *Human mastadenovirus C*
- *Human mastadenovirus D*
- *Human mastadenovirus E*
- *Human mastadenovirus F*
- *Human mastadenovirus G*
- *Murine mastadenovirus A*
- *Murine mastadenovirus B*
- *Murine mastadenovirus C*
- *Ovine mastadenovirus A*
- *Ovine mastadenovirus B*
- *Ovine mastadenovirus C*
- *Platyrrhini mastadenovirus A*
- *Polar bear mastadenovirus A*
- *Porcine mastadenovirus A*
- *Porcine mastadenovirus B*
- *Porcine mastadenovirus C*
- *Sea lion mastadenovirus A*
- *Simian mastadenovirus A*
- *Simian mastadenovirus B*
- *Simian mastadenovirus C*
- *Simian mastadenovirus D*
- *Simian mastadenovirus E*
- *Simian mastadenovirus F*
- *Simian mastadenovirus G*
- *Simian mastadenovirus H*
- *Simian mastadenovirus I*
- *Skunk mastadenovirus A*
- *Squirrel mastadenovirus A*
- *Tree shrew mastadenovirus A*

Human adenovirus A 12

ICTVの動きに、世界がついていけていない。少なくとも、感染症の世界では、、、

2023年より二名法 (binomial nomenclature) 利用に決定した。

→日本ウイルス学会 分類担当 岡山大学 資源植物科学研究所

(岡山大学大学院環境生命科学研究科) 鈴木信弘 教授 より、感染症に関するウイルスの名称を提唱 (整理) 依頼。



Differentiating between viruses and virus species by writing their names correctly

Francisco Murilo Zerbini¹  · Stuart G. Siddell² · Arcady R. Mushegian³ · Peter J. Walker⁴ · Elliot J. Lefkowitz⁵ · Evelien M. Adriaenssens⁶ · Poliane Alfenas-Zerbini⁷ · Bas E. Dutilh^{8,9} · María Laura García¹⁰ · Sandra Junglen¹¹ · Mart Krupovic¹² · Jens H. Kuhn¹³ · Amy J. Lambert¹⁴ · Małgorzata Łobocka¹⁵ · Hanna M. Oksanen¹⁶ · David L. Robertson¹⁷ · Luisa Rubino¹⁸ · Sead Sabanadzovic¹⁹ · Peter Simmonds²⁰ · Nobuhiro Suzuki²¹ · Koenraad Van Doorslaer²² · Anne-Mieke Vandamme^{23,24} · Arvind Varsani²⁵

© The Author(s), under exclusive licence to Springer-Verlag GmbH Austria, part of Springer Nature 2021

Abstract

Following the results of the International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) Ratification Vote held in March 2021, a standard two-part "binomial nomenclature" is now the norm for naming virus species. Adoption of the new nomenclature is still in its infancy; thus, it is timely to reiterate the distinction between "virus" and "virus species" and to provide guidelines for naming and writing them correctly.

ウイルスの名称 例

Species **ICTV**	一般名 **community**	和名(一般名) **コミュニティ**
Human mastadenovirus A	Human adenovirus A12 HAdV-A12 HAdV-12 ...	<ul style="list-style-type: none"> ・ヒトアデノウイルスA種12型 ・ヒトアデノウイルスA12型 ・下痢症関連アデノウイルス...
Human mastadenovirus C	Human adenovirus C1 HAdV-C1 HAdV-1 ...	<ul style="list-style-type: none"> ・ヒトアデノウイルスC種1型 ・ヒトアデノウイルスC1型 ・風邪アデノウイルス ...

名称のルールや統一性は科学の世界では、重要かつ必要な共通の認識

—— 共通言語 ——

すでにHuman mastadenovirus A...G は存在しない

Select to search across all ICTV releases

Show 10 entries

リンク機能せず。通常は変更の履歴が見れる。

	Release	Rank	Name
View History	2023	Genus	Varidnaviria › Bamfordvirae › Preplasmiviricota › Tectiliviricetes › Rowavirales › Adenoviridae › Mastadenovirus
View History	2023	Species	Varidnaviria › Bamfordvirae › Preplasmiviricota › Tectiliviricetes › Rowavirales › Adenoviridae › Mastadenovirus › Mastadenovirus adami
View History	2023	Species	Varidnaviria › Bamfordvirae › Preplasmiviricota › Tectiliviricetes › Rowavirales › Adenoviridae › Mastadenovirus › Mastadenovirus aegyptiaci
View History	2023	Species	Varidnaviria › Bamfordvirae › Preplasmiviricota › Tectiliviricetes › Rowavirales › Adenoviridae › Mastadenovirus › Mastadenovirus alienum
View History	2023	Species	Varidnaviria › Bamfordvirae › Preplasmiviricota › Tectiliviricetes › Rowavirales › Adenoviridae › Mastadenovirus › Mastadenovirus asiense
View History	2023	Species	Varidnaviria › Bamfordvirae › Preplasmiviricota › Tectiliviricetes › Rowavirales › Adenoviridae › Mastadenovirus › Mastadenovirus blackbeardi
View History	2023	Species	Varidnaviria › Bamfordvirae › Preplasmiviricota › Tectiliviricetes › Rowavirales › Adenoviridae › Mastadenovirus › Mastadenovirus bosdecimum
View History	2023	Species	Varidnaviria › Bamfordvirae › Preplasmiviricota › Tectiliviricetes › Rowavirales › Adenoviridae › Mastadenovirus › Mastadenovirus bosprimum

新旧対応表

旧 Species	新 Species
Human mastadenovirus A	Mastadenovirus adami
Human mastadenovirus B	Mastadenovirus blackbeardi
Human mastadenovirus C	Mastadenovirus caesari
Human mastadenovirus D	Mastadenovirus dominans
Human mastadenovirus E	Mastadenovirus exoticum
Human mastadenovirus F	Mastadenovirus faecale
Human mastadenovirus G	Mastadenovirus russelli

Genus	Species	Virus name	Isolate	Accession	Available sequence	Abbrev.
Mastadenovirus	Mastadenovirus adami	human adenovirus 12		X73487	Complete genome	HAdV-12

A,B,C,D,E,F,G種、グループ どこに行ってしまったのか、、、、不明！
2024年初めに、Human adenovirus A12、HAdV-A12提案、、、遅かったか。

Human mastadenovirus の種と型

齧歯類に対して、、

	種	主な疾患	主な型
強発癌	A	感染性胃腸炎	1,2,31
弱発癌	B1	急性呼吸器感染症・ <u>結膜炎</u> ・尿道炎	3,7
	B2	出血性膀胱炎・（尿道炎）	11,34,35
発癌無	C	急性呼吸器感染症・ <u>結膜炎</u> ・（尿道炎）	1,2,5,6
-	D	流行性 <u>角結膜炎</u> ・尿道炎	8,19/64,37,53,54,56,85
-	E	急性呼吸器感染症・ <u>結膜炎</u> ・（尿道炎）	4
-	F	感染性胃腸炎	40,41
-	G	感染性胃腸炎	52

- ・ A-Gの7種に分類され、血清型や遺伝型として100型～が報告されている
- ・ 種によって、関連する疾患が異なり、同一種内でも主な関連疾患が異なる
- ・ 呼吸器系と消化器系では大きな違いがあるが、
- ・ 特に呼吸器系（B,C,E種）のアデノウイルスは広く全身に感染が可能である

the old species name

Human mastadenovirus A: Adam, the first man

Human mastadenovirus B: Blackbeard (the pirate,
viruses act as pirates)

Human mastadenovirus C: Caesar (emperor,
human adenovirus (AdV) 2 and 5 rule almost all AdV labs)

Human mastadenovirus D: Dominating, most abundant

Human mastadenovirus E: Exotic single HAdV type
in the species (among chimp AdVs)

Human mastadenovirus F: detectable mainly in faeces

Mastadenovirus adami

Mastadenovirus blackbeardi

Mastadenovirus caesari

Mastadenovirus dominans

Mastadenovirus exoticum

Mastadenovirus faecale

(We are not following this scheme for *Human mastadenovirus G* because HAdV-52 was not confirmed as a human virus, and there seems to be no need to implicate this group of viruses in having medical importance when they originate from Old World monkeys. Instead, we propose to rename the species after a respected adenovirologist from Scotland, William C. Russell.)

scientist

Russell (simian AdV-1, +many SAdVs; human AdV-52)

Mastadenovirus russelli

現状以下になった。種？群？グループ？A,B,C,D,E,Fはどうすればいいのか。

旧 Species	新 Species
Human mastadenovirus A	Mastadenovirus adami
Human mastadenovirus B	Mastadenovirus blackbeardi
Human mastadenovirus C	Mastadenovirus caesari
Human mastadenovirus D	Mastadenovirus dominans
Human mastadenovirus E	Mastadenovirus exoticum
Human mastadenovirus F	Mastadenovirus faecale
Human mastadenovirus G	Mastadenovirus russelli

Genus	Species	Virus name	Isolate	Accession	Available sequence	Abbrev.
Mastadenovirus	Mastadenovirus adami	human adenovirus 12		X73487	Complete genome	HAdV-12

日本では、一般名として、

human adenovirus A12、HAdV-A12、ヒトアデノウイルスA12 を提案中

Human mastadenovirus の種と型

齧歯類に対して、、、

	種	主な疾患	主な型
強発癌 弱発癌	A	感染性胃腸炎	1,2,31
	B1	急性呼吸器感染症・ <u>結膜炎</u> ・尿道炎	3,7
	B2	出血性膀胱炎・（尿道炎）	11,34,35
発癌無 - - - -	C	急性呼吸器感染症・ <u>結膜炎</u> ・（尿道炎）	1,2,5,6
	D	流行性 <u>角結膜炎</u> ・尿道炎	8,19/64,37,53,54,56,85
	E	急性呼吸器感染症・ <u>結膜炎</u> ・（尿道炎）	4
	F	感染性胃腸炎	40,41
	G	感染性胃腸炎	52

- ・ A-Gの7種に分類され、血清型や遺伝型として100型～が報告されている
- ・ 種によって、関連する疾患が異なり、同一種内でも主な関連疾患が異なる
- ・ 呼吸器系と消化器系では大きな違いがあるが、
- ・ 特に呼吸器系（B,C,E種）のアデノウイルスは広く全身に感染が可能である

表1. アデノウイルスの種、主な疾患と型

種	主な疾患	主なアデノウイルスの型	稀なアデノウイルスの型
A	感染性胃腸炎	12, 31	61
B	ARI, PCF, EKC, HC	3, 7, 11, 34, 35	14, 16, 55, 66, 68, 79
C	ARI, PCF	1, 2, 5, 6	57
D	EKC, 尿道炎	8, 64(19a)*, 37, 53, 54, 56, 85	81
E	ARI, EKC, PCF	4	-
F	感染性胃腸炎	40, 41	-
G	感染性胃腸炎	52	-

ARI：急性呼吸器疾患，PCF：咽頭結膜熱，EKC：流行性角結膜炎，HC：出血性膀胱炎 *64(19a)(19aが64と再定義された)

「表の案を作成し、レファレンスセンターで合意を得たのち、IASR等へ投稿、公開する。行政的な解説、論文投稿時など同じ表を参照し、使用していく方針。アデノウイルスコミュニティとして、一貫した名称使用につながる。」

協力体制の提案：確固たるコミュニティの確立

アデノウイルス研究会

ICTVーアデノウイルス分科会
北海道大学
渡邊日出海先生

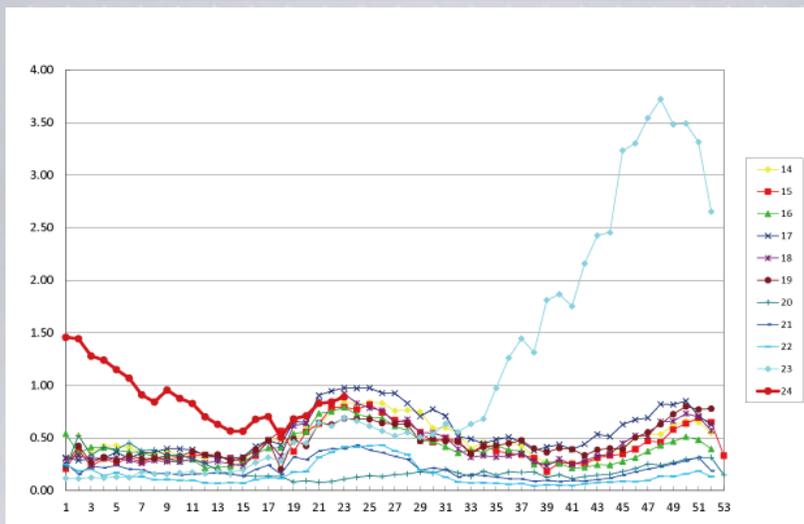
国内
アデノウイルス
研究者

アデノウイルス
レファレンスセンター
花岡
地方衛生研究所等

アデノウイルスワーキ
ンググループ
北海道大学
Gabriel Gonzalez 先生

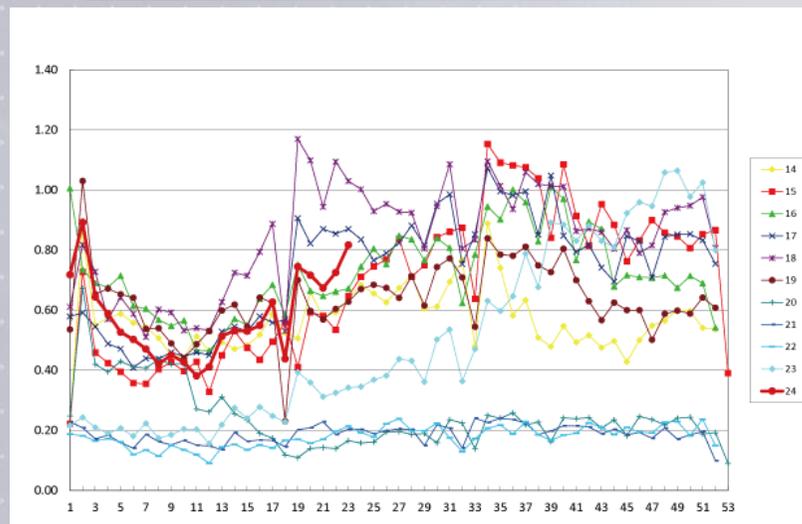
コロナ渦におけるアデノウイルス感染症発生動向の考察

咽頭結膜熱 (PCF)
(小児科定点) 10歳未満



コロナ渦で、20年、21年、22年で大幅減少

流行性角結膜炎 (EKC)
(眼科定点)



コロナ渦での患者数激減から患者数が増えた。
近年では患者数が多いがPCFほどの増加は無い。
・・・眼科定点。。

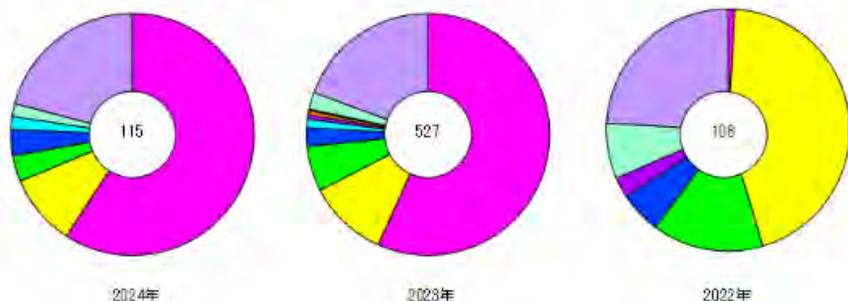
コロナ渦での患者数激減の反動か、異次元の増加を示したが、現在は少し落ち着いている。夏以降の動向に注目される。

*マニュアル改変実施済みのため、混乱なくサーベイランスが実施された。

コロナ渦におけるアデノウイルス感染症発生動向の考察

咽頭結膜熱患者から分離・検出されたウイルス、2020～2024年
 (病原微生物検出情報：2024年6月24日 作成)

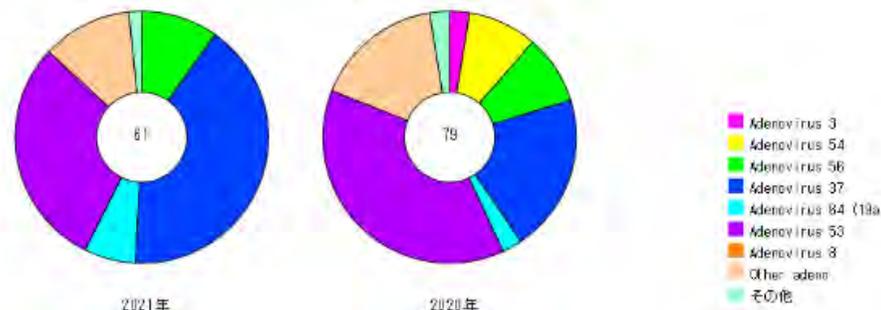
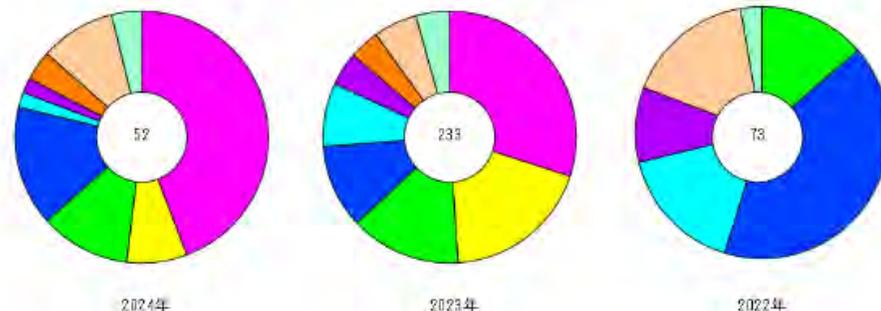
*各都道府県市の地方衛生研究所等からの分離/検出報告を因に示した



- Adenovirus 3
- Adenovirus 2
- Adenovirus 1
- Adenovirus 5
- Adenovirus others
- Adenovirus 6
- Adenovirus 54
- Adenovirus 8
- Other adenovirus
- その他

流行性角結膜炎患者から分離・検出されたウイルス、2020～2024年
 (病原微生物検出情報：2024年6月24日 作成)

*各都道府県市の地方衛生研究所等からの分離/検出報告を因に示した



- Adenovirus 3
- Adenovirus 54
- Adenovirus 56
- Adenovirus 37
- Adenovirus 84 (13a)
- Adenovirus 53
- Adenovirus 8
- Other adenovirus
- その他

コロナ渦での3型消失から、3型が再興し、流行拡大。EKCは患者数は大きく変わらないが、3型が検出されている。3型EKCの特徴？

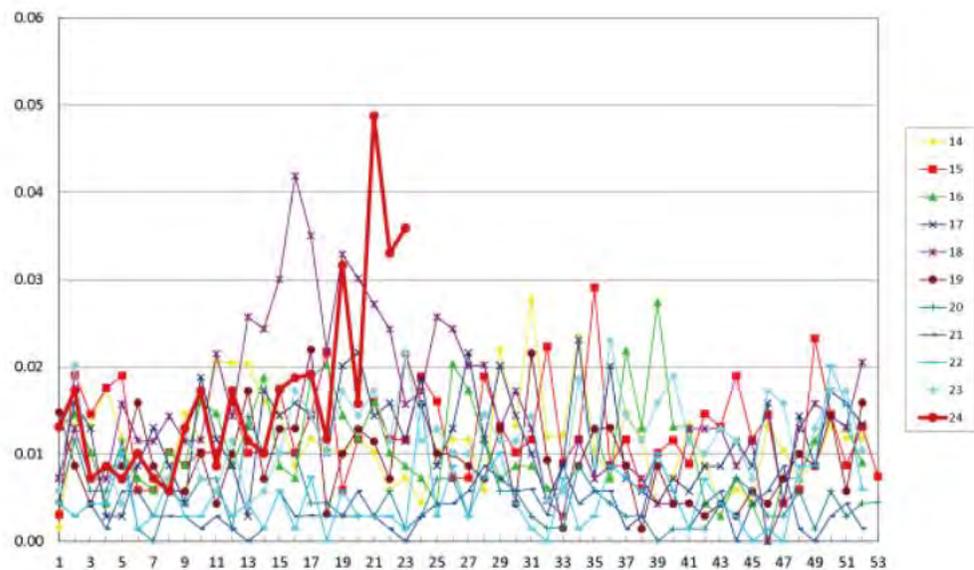
Prevalence of human adenovirus type 3 associated with pharyngoconjunctival fever in children in Osaka, Japan during and after the COVID-19 pandemic

Mei Koyama, Satoshi Hiroi, Yuki Hirai, Atsushi Kaida

急性出血性結膜炎 Acute Hemorrhagic Conjunctivitis

●●ご覧になる時はリロード又は再読み込みボタンを押してください●●

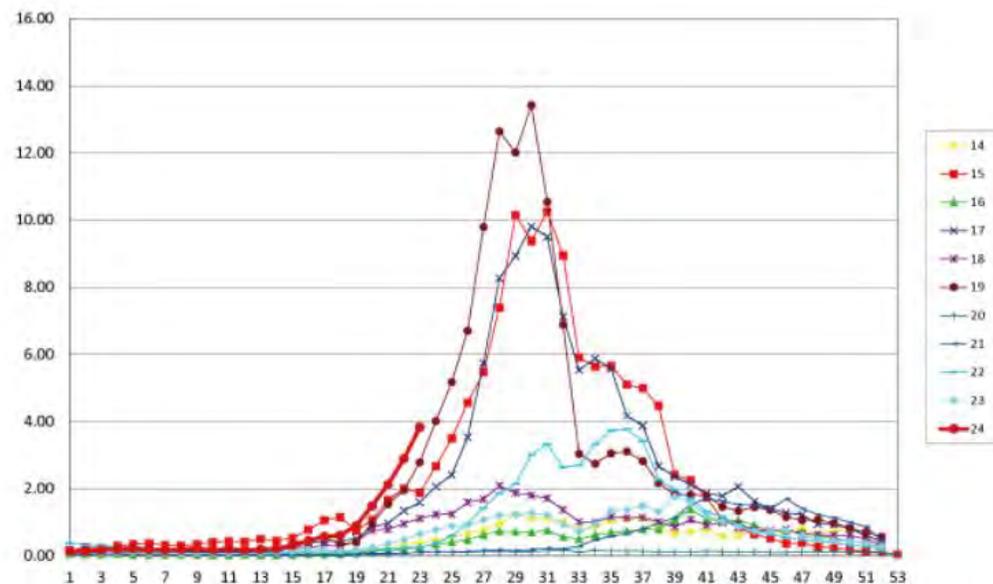
Acute hemorrhagic conjunctivitis (AHC) cases reported per sentinel weekly [定点当たり報告数]



手足口病 Hand-Foot-Mouth Disease

●●ご覧になる時はリロード又は再読み込みボタンを押してください●●

Hand, foot and mouth disease (HFMD) cases reported per sentinel weekly [定点当たり報告数]



26週も増加
型別の情報重要です！！！！

コロナ渦におけるアデノウイルス感染症発生動向の考察

AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY | Journal of Clinical Microbiology

Virology | Full-Length Text

Increased circulation of human adenovirus in 2023: an investigation of the circulating genotypes, upper respiratory viral loads, and hospital admissions in a large academic medical center

Omar Abdullah,¹ Amary Fall,¹ Eili Klein,^{2,3} Heba H. Mostafa¹

AUTHOR AFFILIATIONS See affiliation list on p. 10.

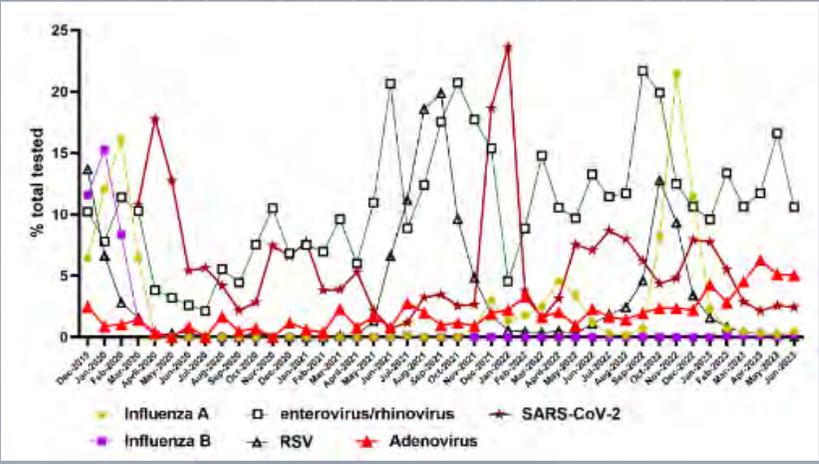


TABLE 1 Demographics of patients used in the study and the characterized HAdV types^a

	HAdV-related admission	Non-related admission	Not-admitted	Excluded
HAdV genotype				
A31	—	—	—	1 (8.3%)
B21	3 (7.5%)	—	—	—
B3	22 (55.0%)	3 (27.3%)	152 (73.4%)	2 (16.7%)
B5	—	—	2 (1.0%)	1 (8.3%)
B7	—	—	1 (0.5%)	—
C1	1 (2.5%)	1 (9.1%)	17 (8.2%)	2 (16.7%)
C2	4 (10.0%)	4 (36.4%)	26 (12.6%)	2 (16.7%)
C5	—	—	1 (0.5%)	—
E4	2 (5.0%)	—	2 (1.0%)	—
Missing	8 (20.0%)	3 (27.3%)	6 (2.9%)	4 (33.3%)

TABLE 1 Comparison of prevalent adenoviruses between Japan and the United States

Species	Type ^a	Subgroup	Type of infection ^b	Detection rate (%)	
				Japan ^c	USA ^d
A	12		Gastrointestinal, respiratory, urinary	0	0.3
	31			1	0.3
	3	1	Keratoconjunctivitis, gastrointestinal, respiratory, urinary	24	22.3
	7			0	12.9
	21			0	1.6
	11	2	Gastrointestinal, respiratory, urinary	0.2	0.2
	14			ND ^e	4.1
	34			ND	0.2
	35			0	0.5
	1		Respiratory, gastrointestinal, including hepatitis, urinary	15	14.7
	2			28.8	19.6
C	5			6.7	3.4
	6			2.3	1.2
	8		Keratoconjunctivitis, gastrointestinal	0.5	3.4
	9			0	ND
	15			ND	0.1
	19			0.6	0.2
	22			ND	0.1
	29			ND	0.1
	33			0	ND
	37			2.5	0.7
	46			0	ND
D	53			0.5	0.6
	54			5.1	ND
	56			1.3	0.1
	64			0.6	ND
E	4		Keratoconjunctivitis, respiratory	5.2	13.4
	41		Gastrointestinal	2.6	0.2
G	52		Gastrointestinal	ND	ND

3型はアメリカでも検出率が高い。
日本とアメリカでは検出状況が異なる

^aHAdV types highlighted in bold were used in this study.
^bInfection types are from the report by Ghebremedhin (1).
^cApproximately 7,200 cases in total. Data were obtained from the Infectious Agents Surveillance Report (April 2021) (https://www.researchgate.net/profile/Tsuguto-Fujimoto/publication/358421869_IASR_Adenovirus_2020/data/6201d9205bd0f2ef854ba76/IASRAdenovirus-2020.pdf).
^dApproximately 1,500 cases in total. Data were obtained from the CDC (<https://www.cdc.gov/adenovirus/reporting-surveillance/natsr/surveillance-data.html>).
^eND, not detected.



コロナ渦後のアデノウイルス3型の再興は、アメリカでも起きている。

決定事項

・感染症発生動向調査：NESID 登録方針案

・マニュアルの改訂：型決定法の追加：利用の推奨

→C種Fiber NestedPCR、**シーケンス**

F1_new	agaccgtctgaagayaccttcaacc
R1_new	tgggcmaatgtakgagarggtrtarg
F2_new	kmtwactactracmamkggtag
R2_new	tatcaaarctdarrcchgytcc

・Web説明会の開催。＊12月下旬25.26.27?

・アデノウイルスの一般名に関して、

コミュニティとしての方針、主張、共有化に関して。

→IASR、JJIDに投稿。地区代表の先生方と共著

15. 大腸菌

レファレンス会議「大腸菌」

2024年7月 3日 ZOOM開催
7月10日 対面開催



レファレンス会議 「大腸菌」

- 他の病原体レファレンス会議とは異なり、レファレンス担当の地衛研を設定していません（EHECの検査に関わるすべての地衛研・保健所等を対象としています）。
- 2019年までは全国衛生微生物協議会の第一日目の午前中に開催（3年に一度感染研が、それ以外は地衛研が持ち回りで主催）
- 2020-2021年はコロナ禍によって開催せず、2022年からオンライン開催に変更、**2024年はオンライン&対面開催**

今年度会ZOOM会議参加登録：89施設, 120名以上

本日の話題

伊豫田 淳（感染研・細菌一部）
イントロダクション

小西 典子 先生

（東京都健康安全研究センター・微生物部）
「糞便を対象としたEHEC検出方法の検討」

泉谷 秀昌（感染研・細菌一部）：
「MLVAの型名付与について」 質問のみ

腸管出血性大腸菌 (EHEC) 検査・診断マニュアル

2022年10月改訂

EHECの陰性確認法について追記

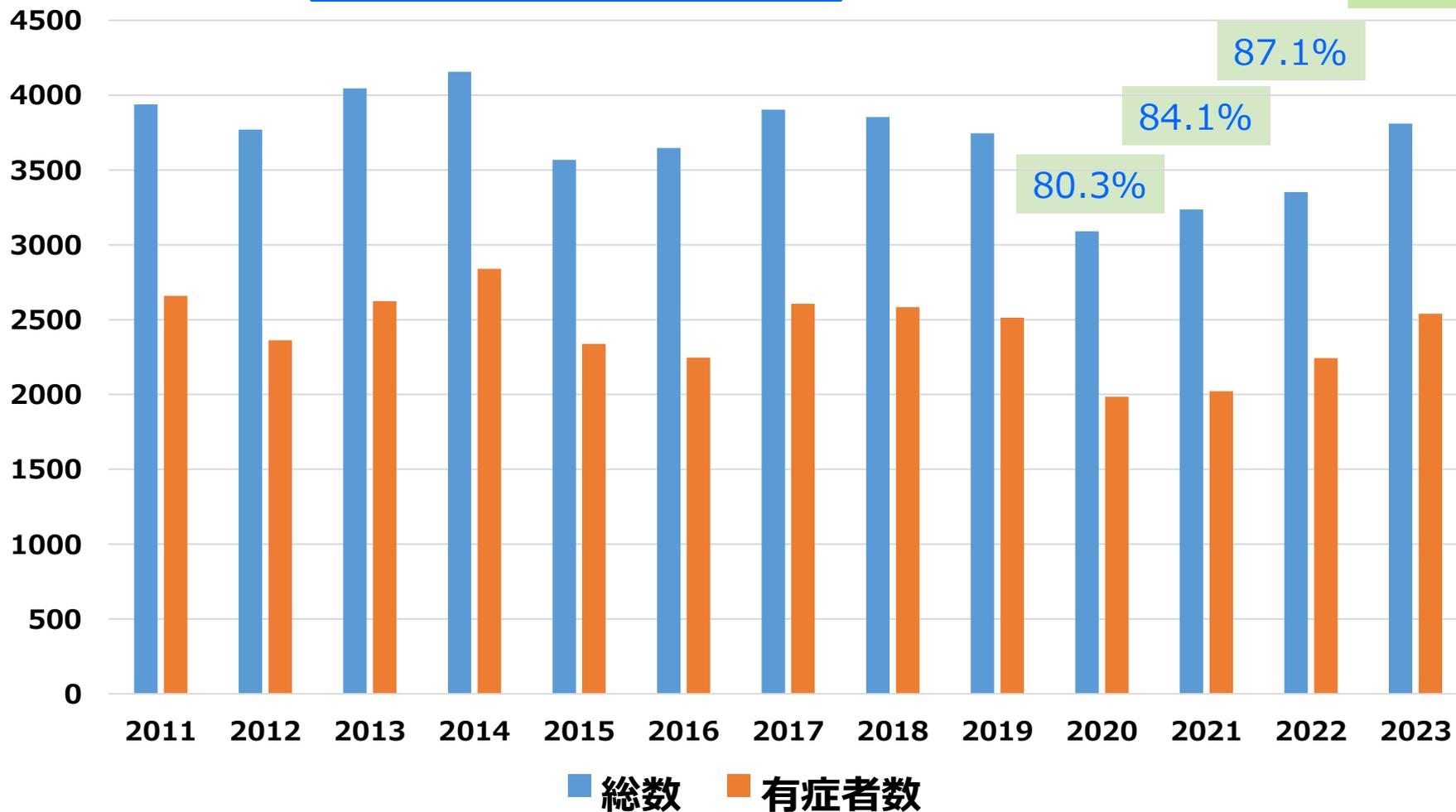
<https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/EHEC20210907.pdf>

EHEC年次届出数 (2011-2023)

2011-2019年平均 : 3,848

Covid-19 pandemic →

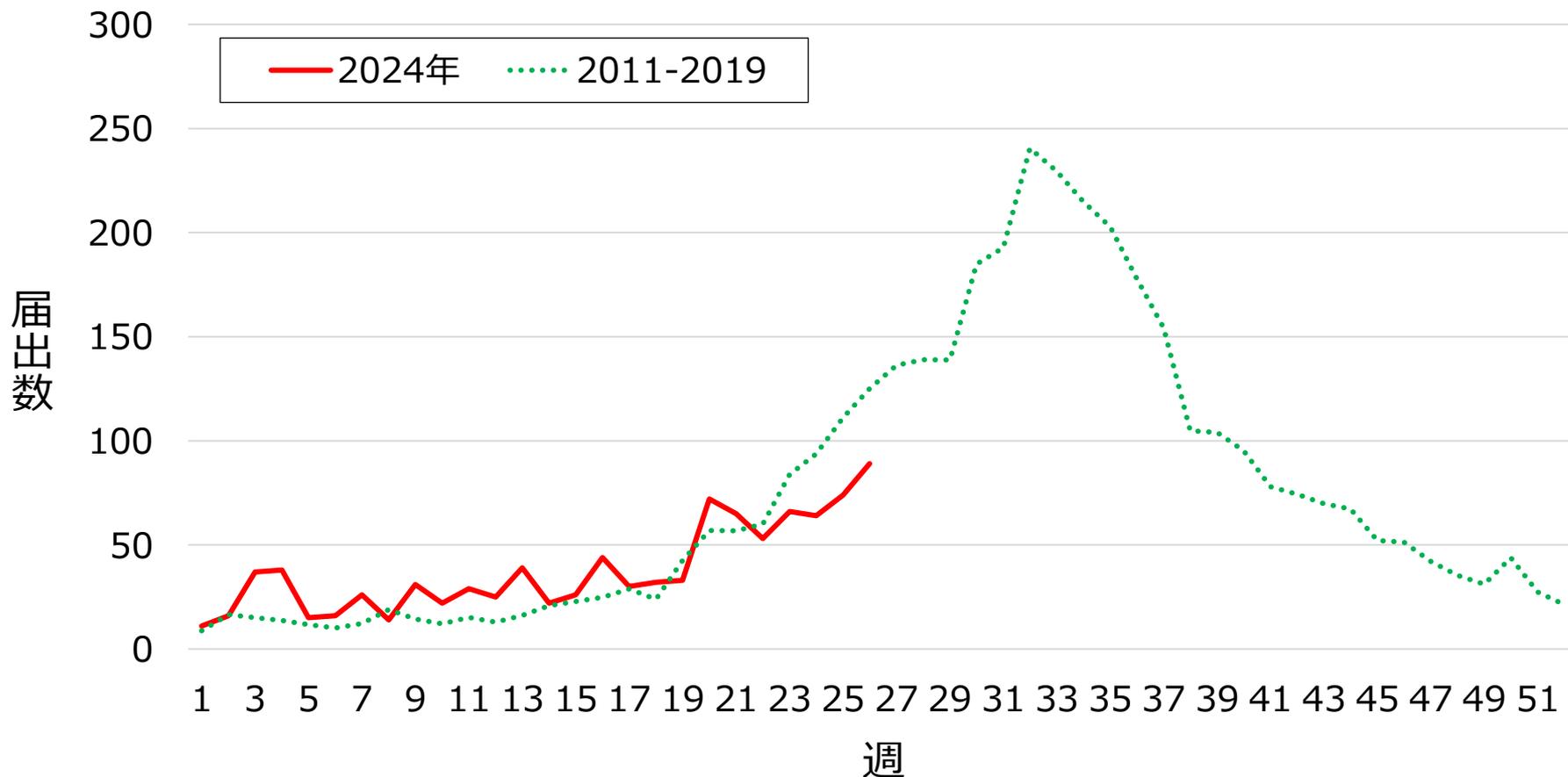
99%



Covid-19パンデミック発生前のレベルに回帰

病原微生物検出情報 (IASR) 2022年5月号改訂

EHEC週別報告数 (2024年第26週:6/29まで)

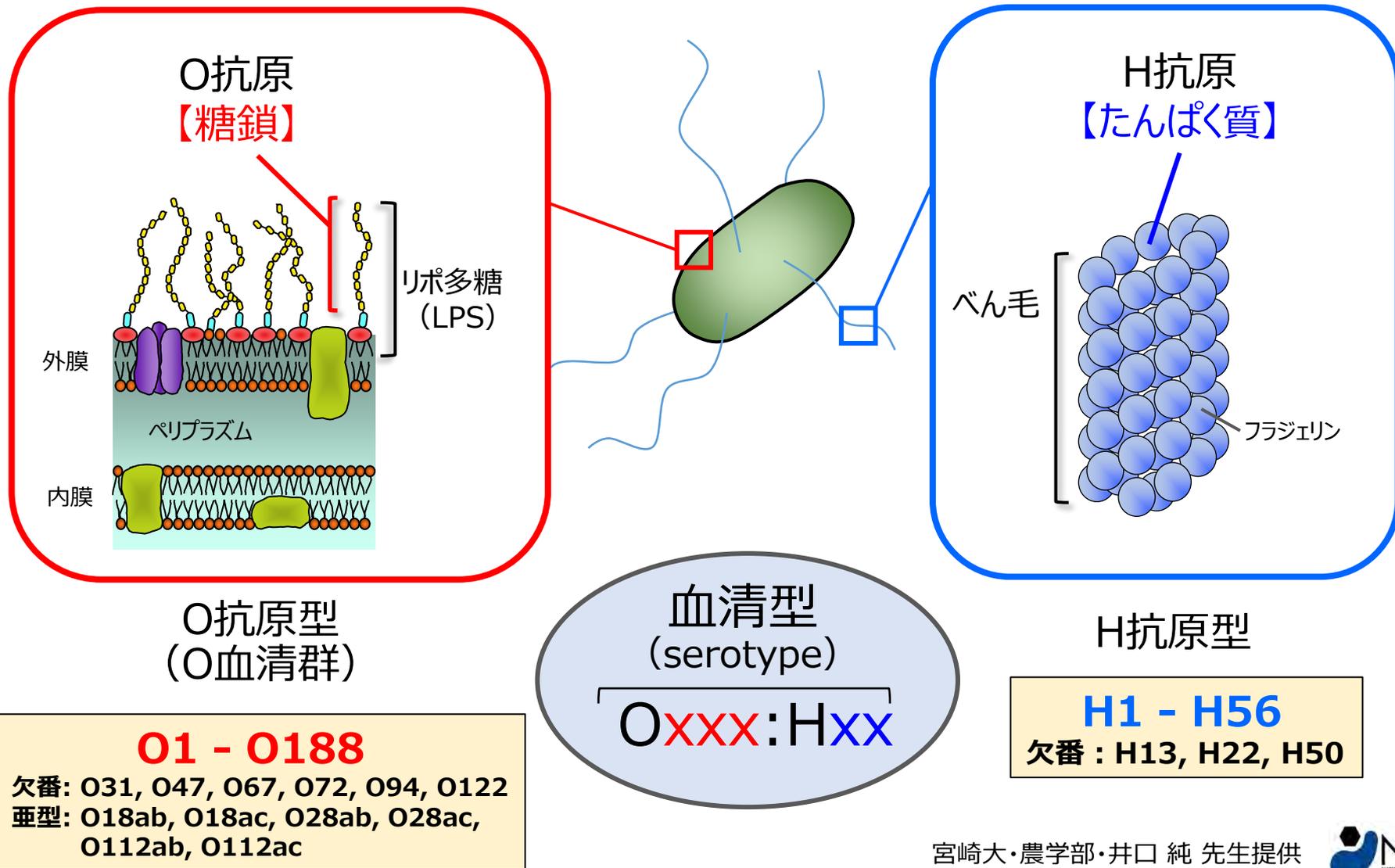


2024年第26週までの累積数：989
(2011-2019年の各第26週までの累積数平均：928)

感染症発生動向調査に届け出されたデータをグラフ化、2011-2019年は平均数

大腸菌の血清型

大腸菌の血清型は O:H の組み合わせで決定される（Oのみの場合は「血清群O157」などと呼ぶ）



E. coli O-genotyping PCR



マルチプレックスPCR法の開発 (O14とO57を除くすべてのO群を検出可能)

MP 1	MP 2	MP 3	MP 4	MP 5	MP 6	MP 7	MP 8	MP 9	MP 10	MP 11	MP 12	MP 13	MP 14	MP 15	MP 16	MP 17	MP 18	MP 19
O165	O112ac	O1	O63	O78	O91	OGp1	O9	O98	O172	O150	O40	O58	O43	O102	O133	O100	O104	O184
O103	O148	O146	O6	O128	O86	OGp9	O41	O96	O88	O30	O45	O12	O187	O38	OGp7	O176	O53	O48
O111	O158	O119	O126	O15	O152	OGp11	O33	O59	O37	O84	OGp10	O141	O180	O64	O149	O175	O155	O39
O157	O114	O142	O143	O166	O8	OGp12	O108	O69	OGp8	O183	O7	O179	O173	O51	O5	O03	OGp14	O10
O26	O144	O167	O27	O161	O115	OGp4	O174	O82	O23	O75	O182	O11	O110	O61	O22	O76	O32	O28ab
O121	O159	O74	O168	O29	O25	OGp3	O60	O177	O163	O113	O109	O140	O147	O70	O19	O85	O65	OGp5
O145	O169	O125	O136	O55		OGp13	O54	O71	O170	O160	O79	O81	O120	O35	O16	O66	O154	O36
stx1						OGp2	O80	O95	O99	O138	O181	O56	O185	O34	O105	O112ab	O131	O156
stx2							O92	O93	O116	O132	O171	O21	OGp15	O97	O87			
ee																		

2021年～ 2023年～

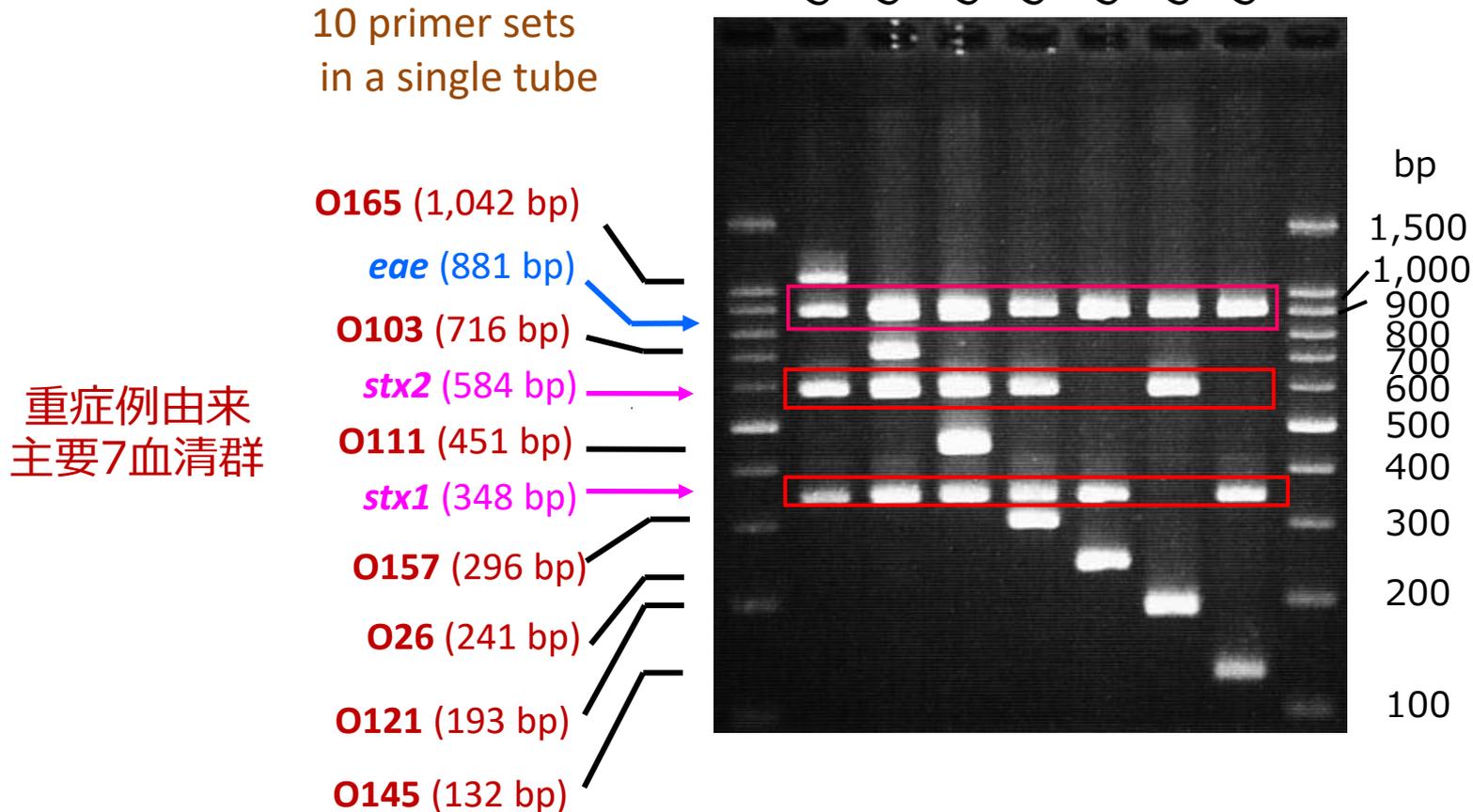
MP 20	MP 21	MP 22	MP 23	MP 24	MP 25	MP 26	MP 27
O130	OgSB7	OgN8	OgSB9	Og5413	OgN15	OgN53	Og29-DE
O49	OgN10	OgN6	OgSB16	OgN32	OgN17	OgN54	OgSD14
O4	OgSB17	OgN5	OgN1	Og48va	OgN33	OgN55	OgN52
O52	OgSS	OgSB12	OgSB2	Og70	OgN13	OgN56	
OGp6	OgN9	OgSB18	OgN7	OgN4	OgN-	OgN16va	
O83	OgN31	OgN11	OgSD10	OgN34	RK13	OgN51	
O139	OgN12	OgN3	OgN2	OgS88			
O24	OgSB13						

MP 1-27:
整合性の評価を行い、
実用化。



J Clin Microbiol. **53**(8):2427-32, 2015; *Front Microbiol.* **7**:765, 2016.
J Clin Microbiol. **58**(11):e01493-20, 2020; *J Clin Microbiol.* **59**(3):e02624-20, 2021;

One-shot multiplex PCR for major 7 O-groups

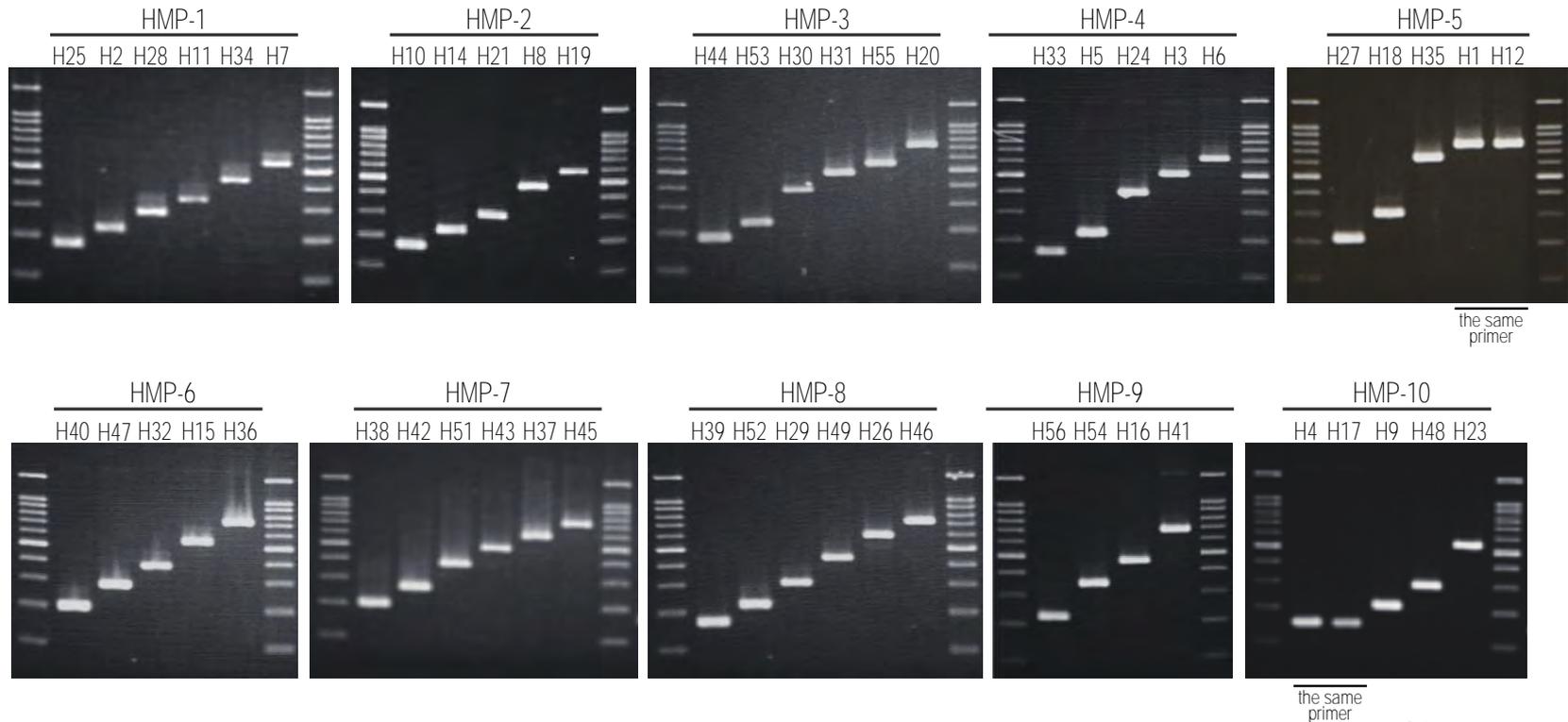


detects 7-major O antigens, *stx1*(a, c), *stx2* (a-e, g) and *eae*.

E. coli H-genotyping PCR

マルチプレックスPCR法の開発 (*J Clin Microbiol.* 56(6), 2018)

全53種類すべてのHg型を検出可能 (H1/H12, H4/H17はグループとして検出)



- EHEC分離株の10-20% (O群によっては100%) を占める H- (非運動性) 株のHg型が決定可能となった。



感染研・細菌第一部での血清型別

- Og-typing PCR & Hg-typing PCR
で確認（抗血清による確認は基本的に省略）
- O157, O26, O111, O103, O121, O145, O165, O91 ;
Og-typing PCRは省略（MLVAで判別可能）
- OgGp（例えば OgGp7; O20/O50）となった場合のみ
抗血清で確認
- O157:H7, O26:H11 以外の運動性を確認
- O157, O26;
Hg-typing PCRは省略、H7, H11は抗血清で凝集確認

2024年7月3日
全国衛生微生物技術協議会
レファレンス会議「大腸菌」
Web会議

糞便を対象とした腸管出血性大腸菌検出方法の検討 迅速な結果判定と効率的な検査法を目指して

東京都健康安全研究センター・微生物部

小西 典子

地方衛生研究所で実施している腸管出血性大腸菌の検査

1. 感染症法に基づく検査

- ・ 腸管出血性大腸菌検出者の陰性確認
- ・ 家族等の関係者, 接触者の糞便検査

- ・ 検査対象となるEHECの血清型, 毒素型がすでに判明している場合が多い
→検査対象群に応じた培地が選択可能
- ・ 既に投薬され糞便中の菌量が少ない場合がある
→より感度の高い検査が求められている

2. 食品衛生法に基づく食中毒に関する検査

- ・ 患者および調理従事者糞便
- ・ 食品（残品, 参考品, 検食）および手指, 調理器具等のふき取り検体

- ・ 糞便から腸管出血性大腸菌を迅速かつ高感度に検出する方法を検討する
- ・ 通常分離培養に加えて増菌培養液からリアルタイムPCR法でスクリーニング試験を実施することの利点および課題について考える

糞便からの腸管出血性大腸菌の検出法 どのようにアプローチしていくのか・・

1. 検査対象が6大血清群（O157, O26, O111, O103, O121, O145）の場合

- ➡ ・CT（セフェキシム・亜テルル酸K）耐性率はほぼ100%
- ・分離平板にCTを加えることができる。食品を対象とした検査法に準じた検査が可能

2. 6大血清群ではないが、血清群が判明している場合

- ➡ ・CT耐性率は血清群によって異なるので、過去に分離された菌株の情報等から分離平板を選択する。念のためnon-selective 培地も使用する血清でスクリーニングが可能

3. 血清群・毒素型が不明な場合

- ➡ ・様々な可能性を考えて検査する

ここが課題

糞便からの腸管出血性大腸菌検出法の検討

供試検体：2022年4月～2023年12月に搬入された糞便 1,487検体
腸管出血性大腸菌の陰性確認，家族・接触者等の糞便

直接分離培養：対象とする血清群に応じた選択分離培地を使用

増菌培養：CT-TSB and/or TSB

37℃ or 42℃

DNA抽出：培養液100μL，アルカリ熱抽出

VT遺伝子のスクリーニング*（リアルタイムPCR法）

遺伝子スクリーニングの成績に関わらず分離平板へ塗抹培養

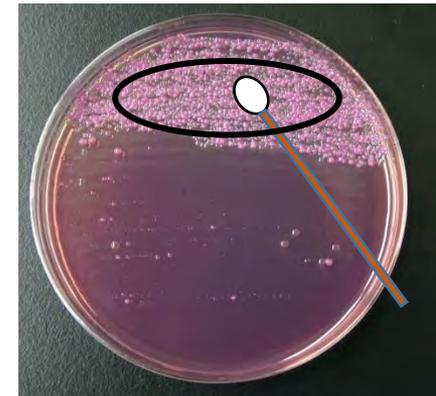
陽性の場合：塩酸処理，免疫磁気ビーズ法，
Colony-sweep PCR法

生化学的性状試験，毒素産生性試験，
血清型別試験を実施し同定

*プライマー

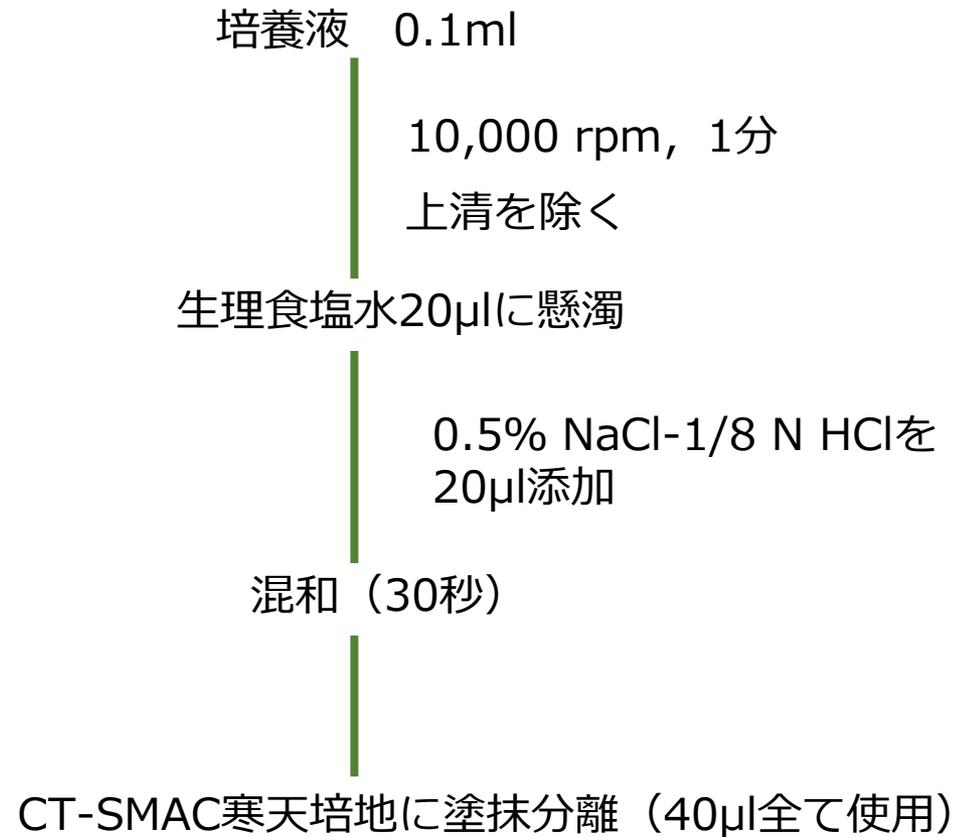
VT1 Nielsen et al. *J Clin Microbiol.* 2003

VT2 自家設計プライマー



Colony-Sweep PCR法

O157分離のための塩酸処理 (Fukushima ら, 1999年)



VT遺伝子スクリーニング試験と分離培養成績

供試数 *	VT遺伝子検査		菌分離数
1,619	陽性	292 (18.0%)	234 (80.1%)
	陰性	1327 (82.0%)	8 (0.6%)

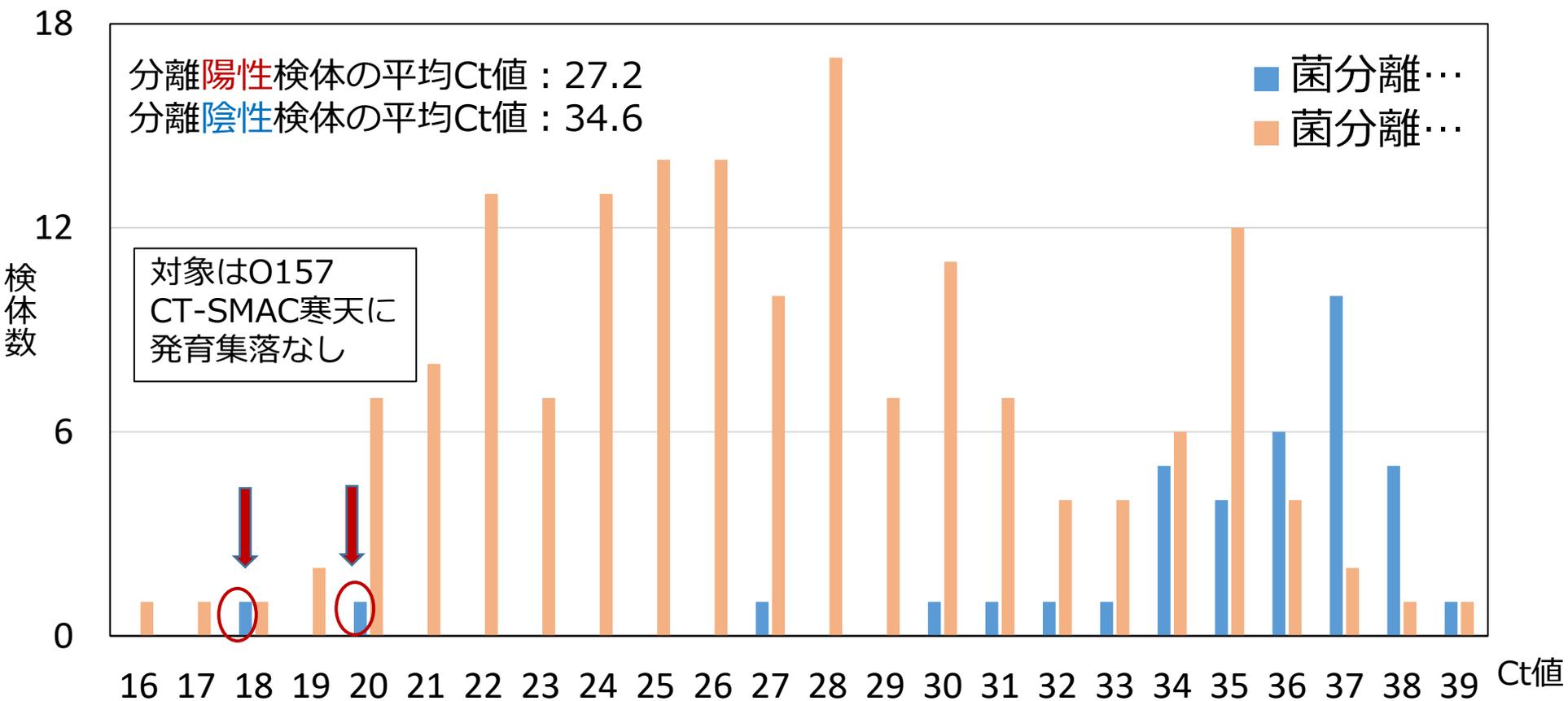
スクリーニング試験陽性検体からのEHEC検出状況

培地		菌検出	(%)
直接分離	増菌培養		
+	+	192	(82.1)
+	-	5	(2.1)
+	NT	8	(3.4)
-	+	29	(12.4)
合計		234	

* 増菌培地 (CT-TSB/TSB) の数
1検体に2種類の増菌培地を用いる場合もあるので、
検体数とは一致しない。

NT：実施せず

直接分離で検出：87.6%
増菌培養のみで検出：12.4%



スクリーニング試験陽性検体のCt値の分布 (VT2遺伝子)

培養液中のO157菌数とCt値の関係

培養液 1mL中の菌数	Ct値	
	VT1	VT2
10^8	17.7	18.3
10^7	20.4	22.2
10^6	23.7	24.9
10^5	27.3	28.5
10^4	30.5	31.5
10^3	34.4	34.7
10^2	37	検出せず

・大腸菌をTSBに接種し37℃で24時間培養すると約 10^9 個/mLになる（液体培地中での最大菌数）

・培養液中のO157菌数が 10^6 個/mLだった場合のCt値は23～24

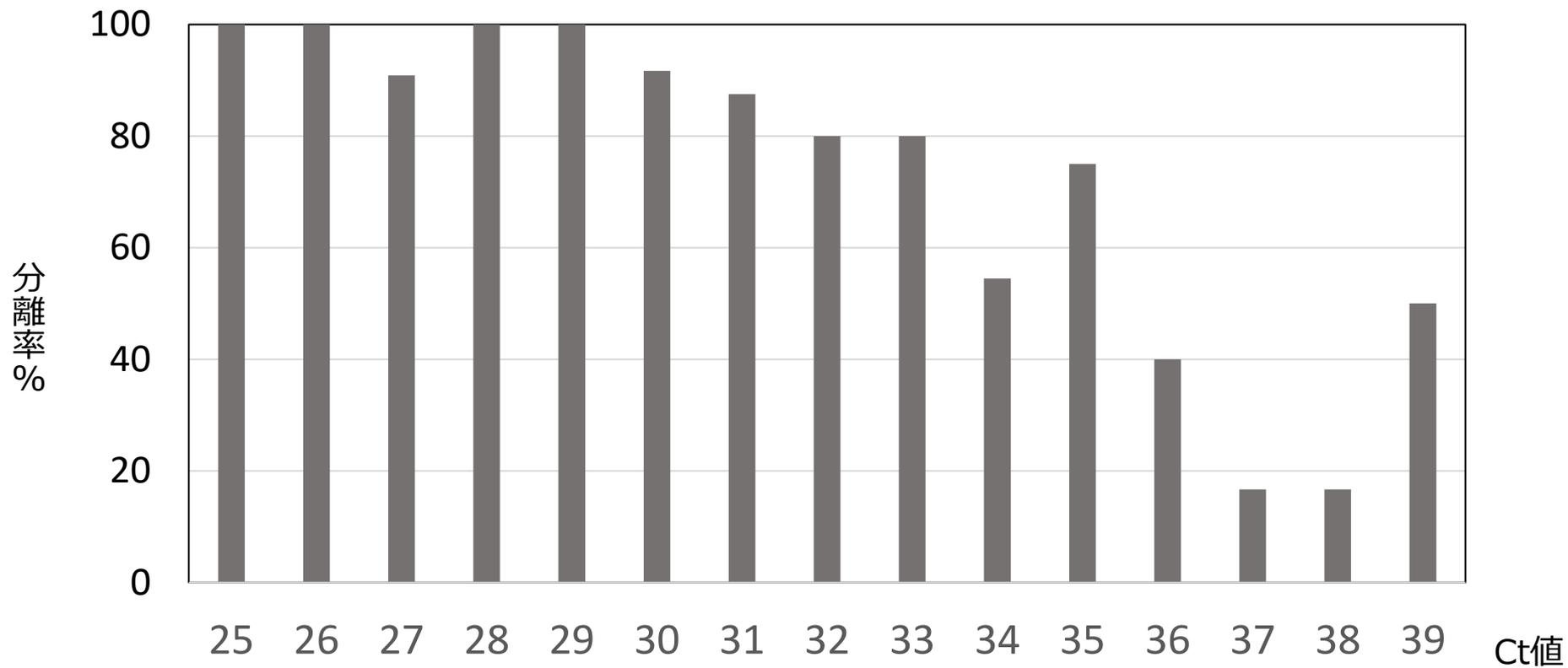
→O157：夾雑菌 = 10^6 ： 10^9 = 1：1000

・Ct値30では培養液中の菌数は約 10^4 個/mL



夾雑菌を抑え、できるだけ集菌したい

- ・夾雑菌を選択剤で抑える
- ・免疫磁気ビーズ法で集菌する



増菌培養液からの遺伝子検査陽性検体のCt値と菌の分離率

VT遺伝子スクリーニング試験陰性で腸管出血性大腸菌が分離された検体

検出状況		検体数	血清群
直接塗抹のみ	1集落	3	O157, O111
直接塗抹のみ	複数集落	2	O157, O26 ¹⁾
直接 + 増菌	複数集落	1	O157 ²⁾
増菌のみ		2	O157 ³⁾

検体中のEHECが非常に少量



- ・増菌培地に入らなかった。
- ・夾雑菌の影響で、増えることができなかった。

増菌培地中にEHECは存在するのに
PCRは陰性
→培養法の方が感度が良い場合もある。

1) 増菌培地からの分離：菌の発育は無し

2) 増菌培養液中のO157菌数： 2.3×10^4 /mL
Pseudomonas 属菌が多数発育



夾雑菌の影響

3) 増菌培養液中のO157菌数： 2.1×10^2 /mL



PCRの検出限界以下

(感度： 1×10^4 cfu/増菌培養液)

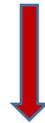
直接平板/増菌培地



遺伝子検査でのスクリーニング試験



陰性→検査終了



陽性

→簡単に菌が分離できるとは限らない

どこまで追いつけるのか？

どこまでやって検出限界とするのか？

死菌が反応している可能性は？

非特異的反応の可能性は？

検査終了の判断は？

2種類の腸管出血性大腸菌が検出された事例

検査依頼：腸管出血性大腸菌O26（VT1）

直接分離

CT-RMAC, クロモSTEC

釣菌

No.	CT-RMAC	STEC*
16-3	O157	O157
16-4	—	O26

増菌培養：CT-TSB

スクリーニング試験

No.	Ct値	
	VT1	VT2
16-3	25	20
16-4	33	28

分離培養成績

No.	HCl処理なし		HCl処理あり	
	CT-RMAC	STEC	CT-SMAC	CT-RMAC
16-3	O157	O157	NT	O157 O26
16-4	O26	O157 O26	O157	NT

結果報告

O157（VT1+VT2産生）
O26（VT1）を検出

夾雑菌が多い検体からO157を検出した事例

検査依頼：腸管出血性大腸菌O157

直接分離：CT-SMAC→対象集落無し

増菌培養：CT-TSB (42℃)

スクリーニング試験

VT1：陽性 (Ct値 37)

VT2：陽性 (Ct値 37)

増菌培養液から

CT-SMAC, クロモSTECへ分離
免疫磁気ビーズで集菌後分離

対象集落なし

HCl処理後DHL寒天へ分離

翌日Colony-Sweep PCR：VT2陽性 (Ct値 25)

DHL寒天平板上80集落検査→陰性

*

*

DHL寒天Colony-Sweep液からクロモアガー-
STECへ分離→紫色集落4集落：陰性
この時点で結果報告 (5日目)

クロモアガー-STEC Colony-Sweep液を
段階希釈してコンラージ

10⁻⁶希釈で9集落がO157陽性

O157 (VT2産生) を検出

検査の際に考えなければならないこと

検体搬入から結果報告までの期間：3日～7日程度

必要以上に延長することは難しい
どこまで延ばせるのか？

費用：

リアルタイムPCR：260円×2 = 520円

クロモアガーSTEC：255円/1枚

CT-SMAC寒天：145円/1枚

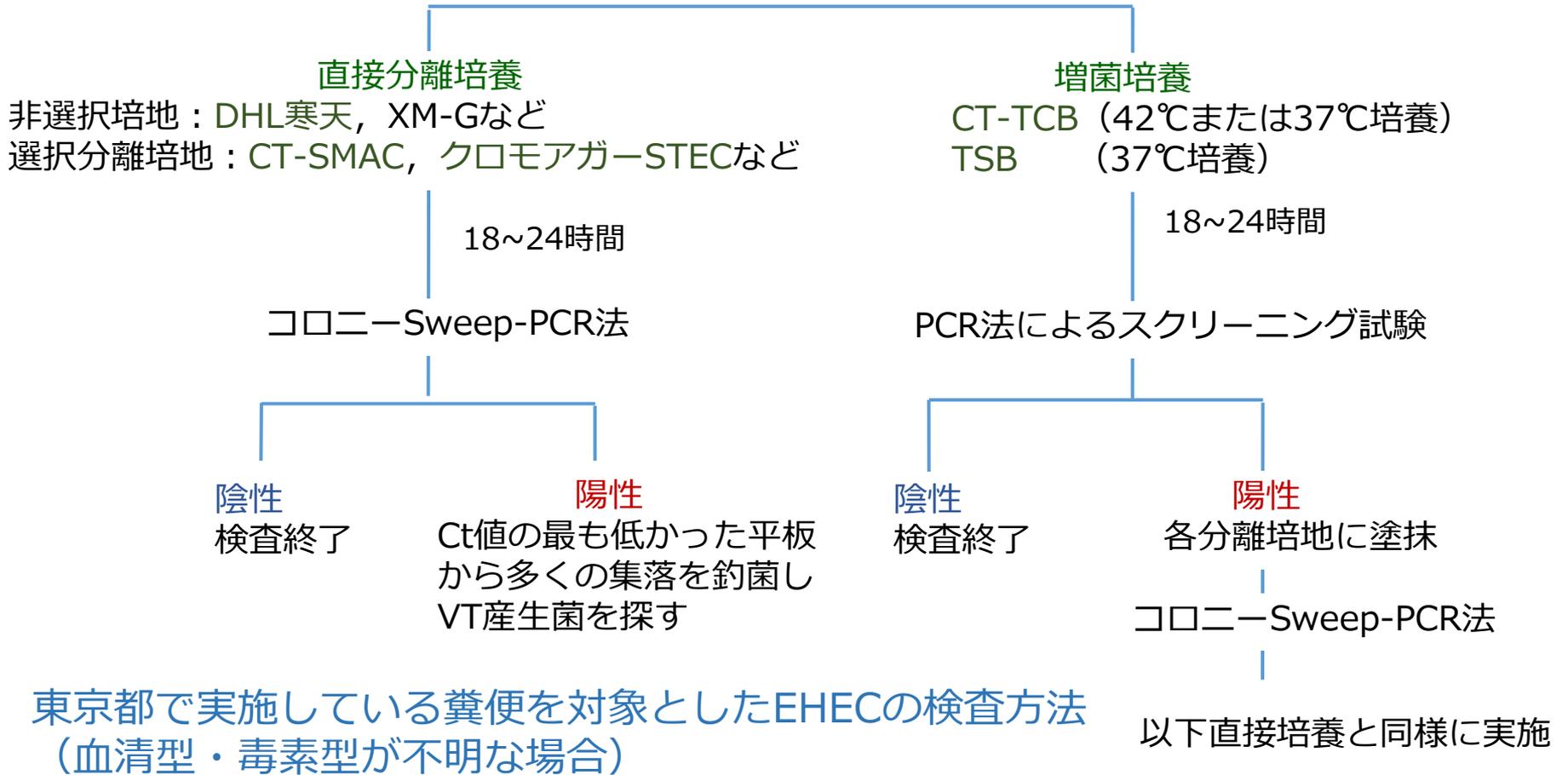
人員数

他の検体搬入状況



コストと時間をかければかけるほど
分離率が上がる・・・というわけではない

糞便



東京都で実施している腸管出血性大腸菌の検査法（2024年）

検査対象	直接培養 →PCR	増菌培養 →PCR	増菌培養→分離培養
O157など6大血清群	×	△ (O157, O26, O111 : ×)	○全て分離 ¹⁾
6大血清群以外 (血清群が判明)	○	○	×PCR陰性の場合には分離せず ²⁾
O血清群不明	○	○	×PCR陰性の場合には分離せず ²⁾

1) 免疫磁気ビーズ法，塩酸処理を実施する場合もあり

2) PCR陽性の場合には各分離平板へ分離→翌日，Colony-sweep PCR法で確認
免疫磁気ビーズ法で集菌

増菌培養液を対象としたPCRスクリーニング試験 まとめと考察

利点

- 精度が高く，効率的な検査が可能となる
 - 予め目的とする菌の存在を予測できるため，菌を分離できそうな検体に的を絞り，手厚く検査を行うことが可能となる
- ➡ 特にCT-SMAC，クロモアガー-STECなどの選択分離培地に発育する血清群菌では分離率が高い

課題・問題点

- 遺伝子検査が陰性であっても菌が分離された検体がある（0.2%）
→PCR陰性でも分離培養は必要か？
 - スクリーニング試験陽性で菌が検出されない場合考えられること
 - ①夾雑菌の影響，②死菌の影響
 - ③非特異的反応
 - ④コンタミネーション等
 - ⑤分離培養の検出限界
（遺伝子検査の感度が良い）
- ➡ 必要以上に時間，労力，コストがかかる場合がある

EHEC MLVAの型名付与 について

衛生微生物技術協議会
一大腸菌リファレンス会議
国立感染症研究所細菌第一部
泉谷秀昌、伊豫田 淳

わが国でEHECに使われてきた(いる) 分子疫学解析手法

腸管出血性大腸菌による広域的な感染症・食中毒に関する調査について(平成30年6月29日、令和5年6月28日)

1996

PFGE
• la,l,l
(RAPD)
(AFLP)

2004

PFGE
(Pulsenet protocol)
• TN#858など

2012

IS-PS
• O157
• 32箇所のIS
• +4種類の病原性遺伝子

2014

MLVA17

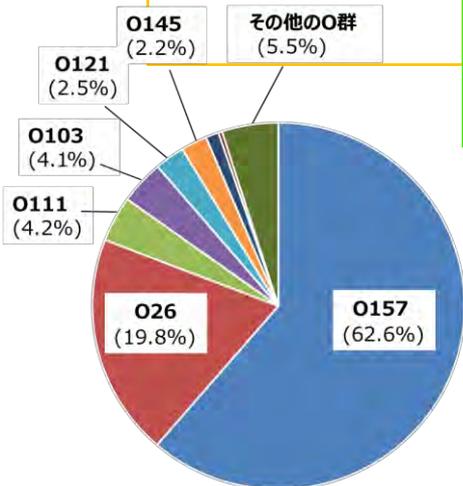
- O157
- O26
- O111

2018事務連絡

統一手法

(2017:追加5血清群)

ヒト由来EHECのO血清群 (2007-2022)



n=43,272

腸管出血性大腸菌による広域的な感染症・食中毒に関する調査について(平成30年6月29日)

- 腸管出血性大腸菌による広域的な感染症・食中毒については、平成29年夏期の発生事例を踏まえ、同年11月に腸管出血性大腸菌感染症・食中毒事例の調査結果取りまとめを行い、事例の検証、今後の対応等を整理し公表しています。
- 今般、当該取りまとめを踏まえ、病因物質が腸管出血性大腸菌O157, O26, O111と疑われる場合は、下記の関係通知に加え、別紙のとおり取扱うこととしますので、実施方よろしくお願います。
- 別紙 1. 概要
- 腸管出血性大腸菌による広域的な感染症・食中毒の調査について、事案の早期探知、関係部門間の連携及び情報の共有等を目的として新たに、疫学情報に感染症サーベイランスシステムにて付与された番号(以下「NESID ID」という。)を付して管理するとともに反復配列多型解析法(Multiple-Locus Variable-number tandem repeat Analysis 以下「MLVA 法」という。)による解析結果を一覧化して共有を行うこととするため、その取り扱いについて定める。また併せて、国、都道府県等関係機関¹の連携・協力体制を確保するため、腸管出血性大腸菌による広域的な感染症・食中毒に関する調査情報の共有手順等について定める。

腸管出血性大腸菌による広域的な感染症・食中毒に関する調査について(再周知令和5年6月28日)

- 令和5年第1～23週までの機関において感染症発生動向調査に報告された腸管出血性大腸菌感染症の届出数は例年より多き状況で推移しており、平成26年以後で最も多くなっています。また、血清群・毒素型の内訳としてO157 VT2(ベロ毒素2型)の届出数が例年より多い状況で推移しております。
- 腸管出血性大腸菌による感染症等の調査は、平成30年6月29日付厚生労働省健康局結核感染症課・医薬・生活衛生局食品監視安全課事務連絡「腸管出血性大腸菌による広域的な感染症・食中毒に関する調査について」(別添)に基づいて対応いただいているところですが、引き続き、感染症部局、食品衛生部局及び検査部門が連携を図り、**確実かつ可能な限り迅速な調査を行うようよろしくお願いします**

(参考)

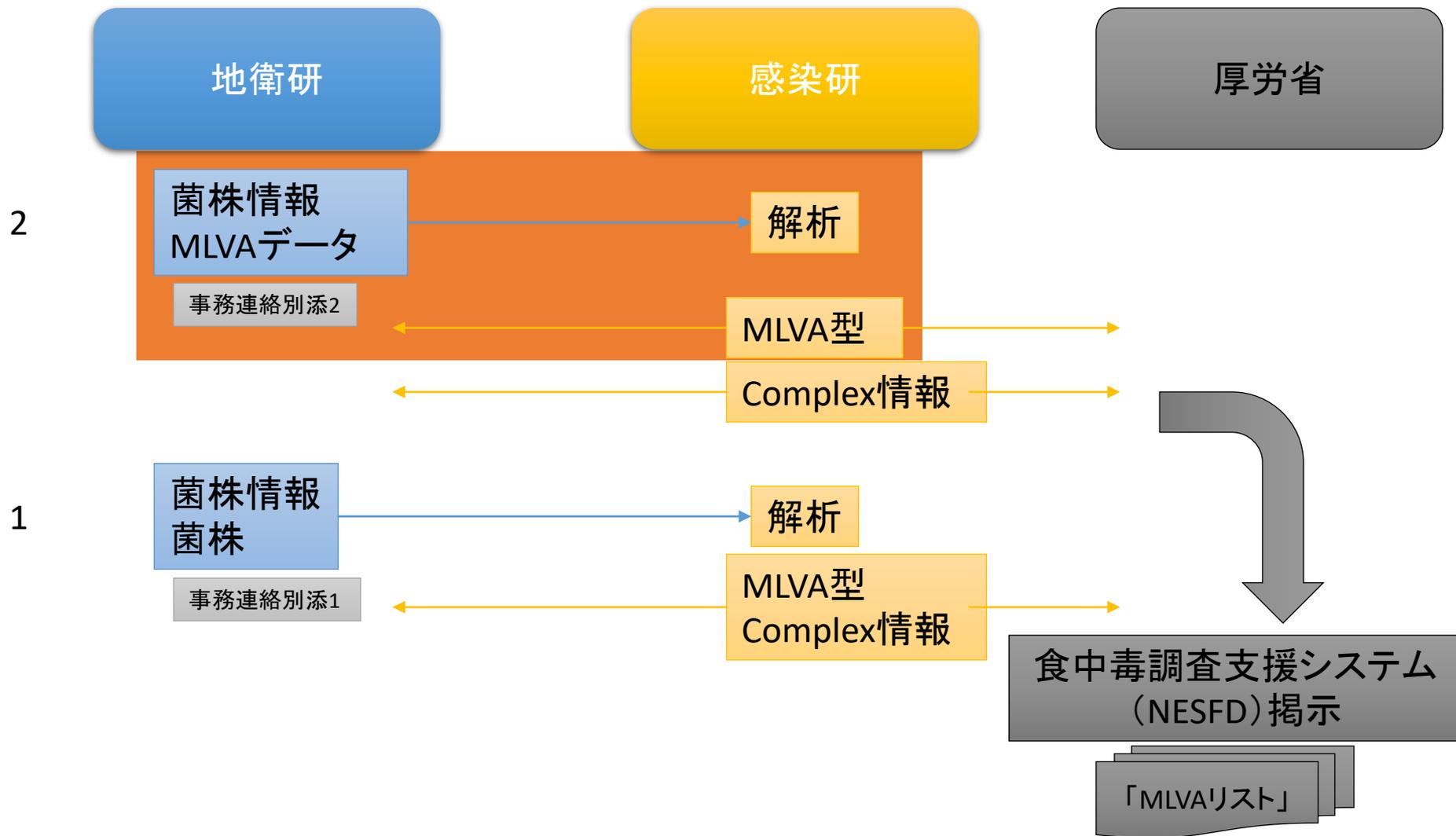
年別 第1～23週 腸管出血性大腸菌感染症及びO157 VT2 累積報告

年	平成26年	平成27年	平成28年	平成29年	平成30年	令和元年	令和2年	令和3年	令和4年	令和5年
腸管出血性大腸菌感染症届出数*1	485	589	472	530	664	639	477	608	665	738
O157 VT2届出数*2	47	96	63	61	86	97	63	57	64	179

* 1 : 国立感染症研究所感染症発生動向調査週報 (IDWR) から抜粋
(各年第23週集計時暫定値)

* 2 : 感染症発生動向調査から個別に集計 (各年第23週集計時暫定値)

送付MLVAデータに基づく MLVA型付与について(厚労省事務連絡)



別添2

増幅なしは「-2」

発症日	分離日 (不明の場合は診断日)	地研菌株/疫学情報	症状	O-H	感染研ID	VT1	VT2	測定法	MLVAtyp	MLVAcod	PFGE	コメント	地方衛生研究所	NESID#	自治体名	EH11-1	EH11-14	EH11-8	EH57-12	EH26-7	EHC-1	EHC-2	EHC-5	EHC-6	O157-3	O157-34	O157-9	O157-25	O157-17	O157-19	O157-36	O157-37	MLVA備考	
2018/4/1	2018/4/7	nnnn1			O157:H7	-	+	P,R,I					yy衛生研究所		A部																		O157-36 : 2と6のピーク有	
2018/4/1	2018/4/7	nnnn2			O157:H7	-	+	P,R,I					yy衛生研究所		B県																			
2018/4/1	2018/4/7	OS1			O157:H7	+	+	P					zz衛生研究所		C市																			

※灰色セルは、感染研入力データ

備考欄:ダブルピークの情報など

MLVA型付与について

導入時

- 送付済み菌株のMLVAデータ送付
- 感染研→地研

導入後

- 菌株とMLVAデータの送付（地研→感染研）
- 精度確認（答え合わせ）（感染研→地研）

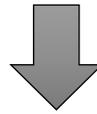
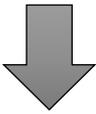
感染研側からも地研側からもデータのやり取りに問題がないと判断

型名付与

- MLVAデータの送付（地研→感染研）

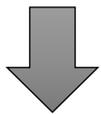
定期的に菌株を送付（地研→感染研）して精度確認（感染研→地研）

O157、O26、O111においてピークの出現頻度が99%以上(2017-2020年株)の遺伝子座



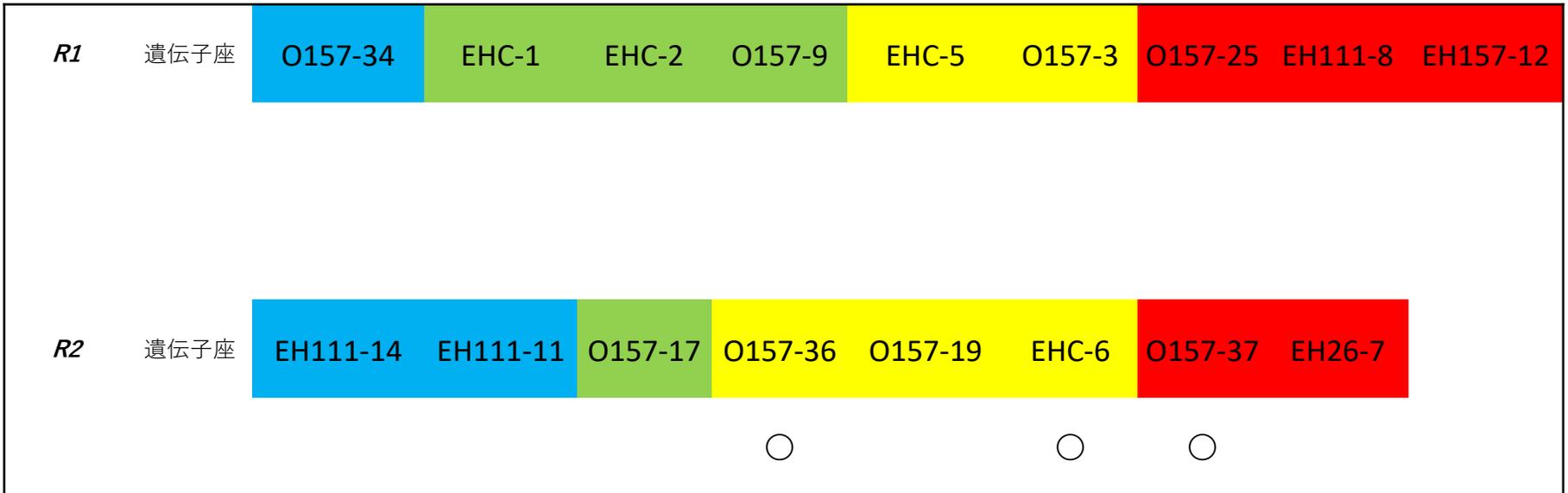
<i>R1</i>	遺伝子座	O157-34	EHC-1	EHC-2	O157-9	EHC-5	O157-3	O157-25	EH111-8	EH157-12
		○ (100%)	○ (100%)	○ (99.9%)				○ (100%)	○ (99.9%)	○ (100%)

<i>R2</i>	遺伝子座	EH111-14	EH111-11	O157-17	O157-36	O157-19	EHC-6	O157-37	EH26-7
			○ (99.9%)		○ (99.9%)				

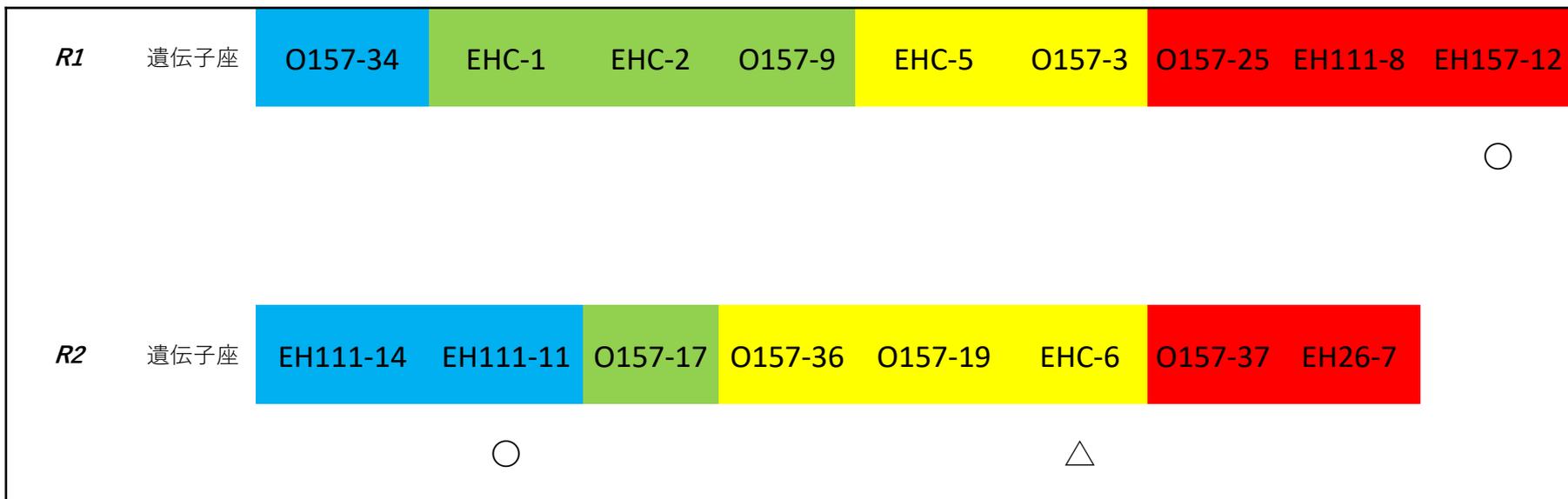


増幅効率が悪い傾向がある⇒試験の条件が良いかどうかの指標にする
(特にO157-34)

プラスミド(にあると考えられている)遺伝子座



Binからずれやすい遺伝子座



日によって泳動度が変わりやすい

MLVA型付与について

導入時

- 送付済み菌株のMLVAデータ送付
- 感染研→地研

導入後

- 菌株とMLVAデータの送付(地研→感染研)
- 精度確認(答え合わせ)(感染研→地研)

感染研側からも地研側からもデータのやり取りに問題がないと判断

型名付与

- MLVAデータの送付(地研→感染研)

定期的に菌株を送付(地研→感染研)して精度確認(感染研→地研)

MLVAデータ精度確認について

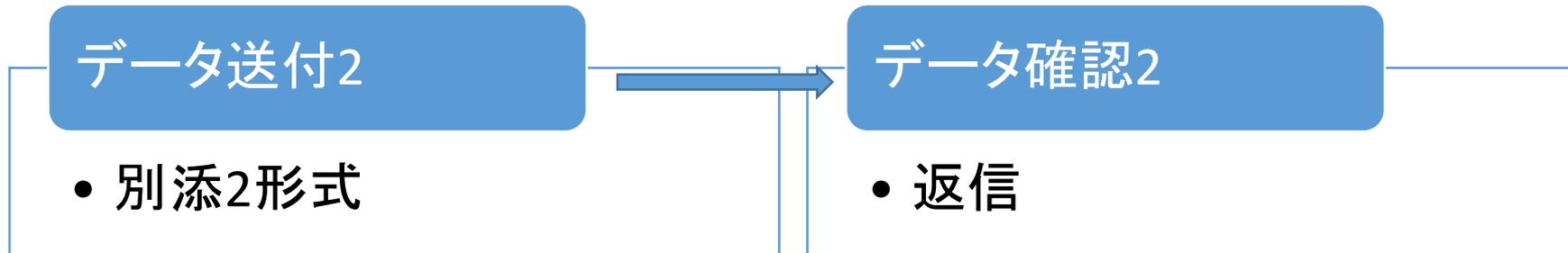
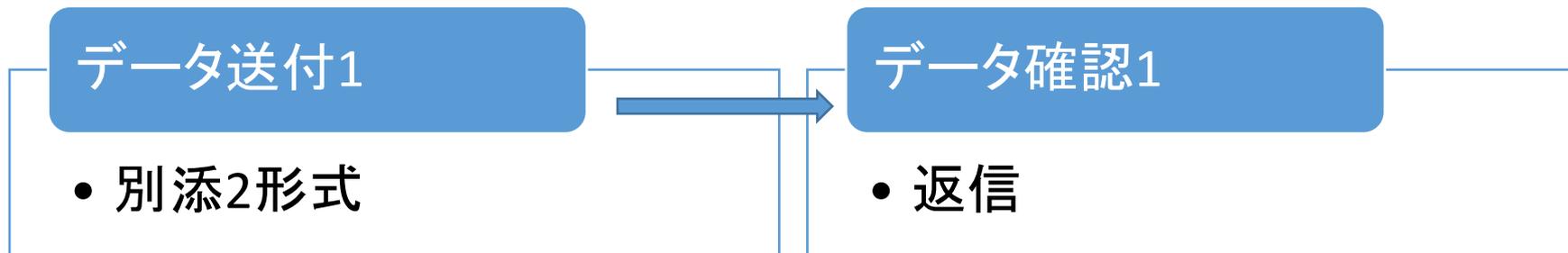
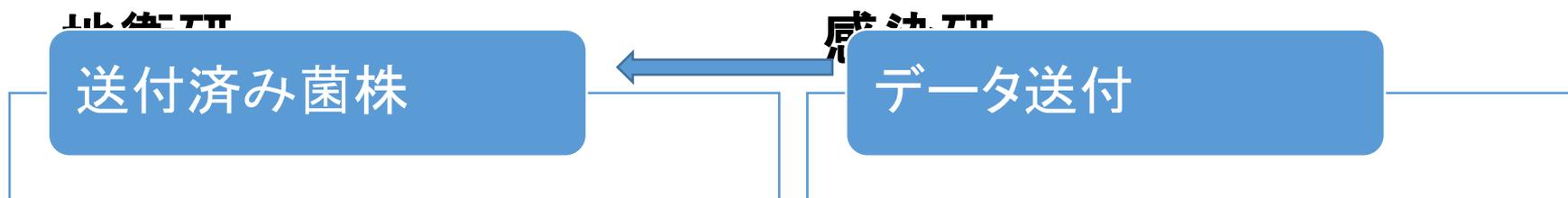
	EH111-11T	EH111-14BB	EH111-8O	EH157-12N	EH26-7D	EHC-1Q	EHC-2C	EHC-5S	EHC-6U	O157-3W	O157-34Y	O157-9M	O157-25J	O157-17Z	O157-19L	O157-36AA	O157-37V
[菌株#]	2	-2	1	6	-2	11	5	-2	-2	11	9	12	4	4	7	9	6

地衛研

感染研



型名付与開始までの流れ



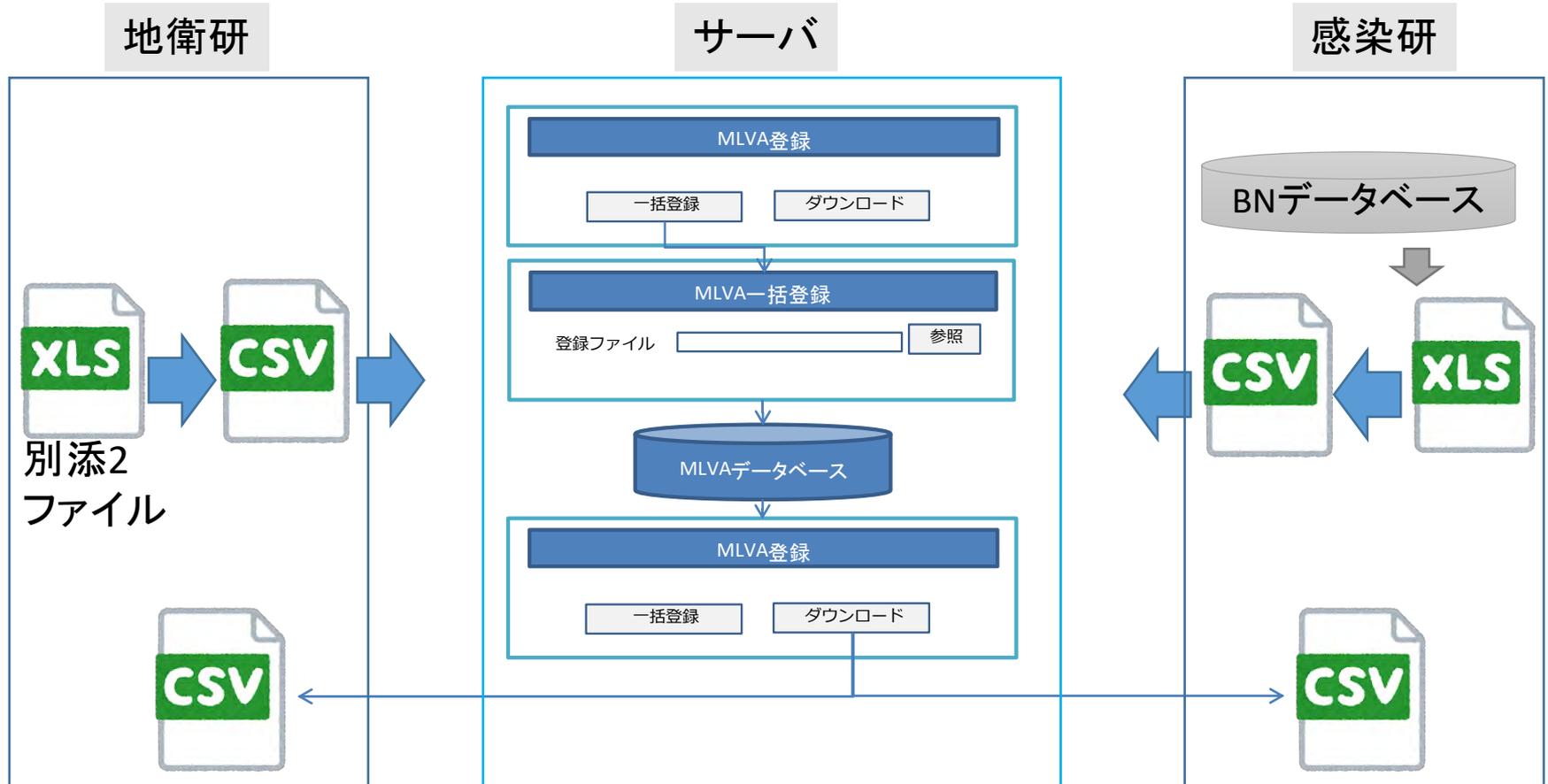
送付済み菌株に関して、複数回感染研にてデータ確認(答え合わせ)を実施し、特に問題がなければ型名付与をお受けします。

型名付与開始後の注意点

- 特段の問題がないかぎり、fsaファイルは不要です。
 - 非定型な株の場合、Binにあたらぬ、などの問題があった場合には菌株もお送りください。
- 型名付与を行っていても、定期的に(最低年1回)、一部もしくはすべての株を送付して、データの確認を実施してください。
 - メールベースでの型名付与
 - MLVAシステムによる型名付与
 - いずれの場合も定期的な精度確認をお願いします。

型名付与が可能
になった後の段階

MLVAシステム

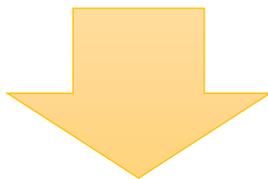


オンラインでMLVA型が取得できます

MLVAシステム

メールアドレスの型名付与の処理において、

- 送付データに明らかな問題がないこと
- ほぼリアルタイムにMLVA検査を実施してデータを送っていただいていること
- 精度確認において特段の問題が見られないこと



MLVAシステムが利用可能となります。

MLVAシステム 注意点

- csvファイル作成時にメッセージが出た場合には、必ず元のエクセルデータ、を確認してください。
 - 不明な点がありましたら、システム経由ではなくメールでデータをお送りください。
- 別添2ファイルから変換されたcsvファイルを開けない方がよいです。
 - エクセルで開いたときにcsvファイルが書き換わる可能性があるため。
- データベース内に同じMLVA型のデータがある場合には、登録時にメッセージが表示されますので、そこで1回ダウンロードして、閉じた後にもう一度通常の結果のダウンロードの計2回ダウンロードすることになります。
- すでに菌株を送付している場合にはMLVAシステムを使ってデータを登録しないでください。

MLVAシステム 注意点

- 担当者が変わる場合には、**改めて手順、および注
意点の確認**をお願いいたします。

型名付与への移行について

菌株送付



型名付与
(メール)



型名付与
(システム)

2回以上の精度確認で問題ない場合、型名付与の希望のメールをお送りください。

目安として、昨年4回以上リアルタイムに型名付与を実施し、精度確認で問題ないと判断された場合、システム利用希望のメールをお送りください。

厚労科研泉谷班のブロック研究分担者から連絡

精度確認 (答え合わせ)

- メールベース、システム経由にかかわらず、定期的に菌株を送付し、精度確認を実施してください。
 - シーズンオフ中
 - 担当が変わった際

お知らせ

- 7月以後は2024年株のみと比較を行います。
- 従来の回覧ファイルは(一部)休止します。
- 引き続き、菌株(ならびに情報・データ)送付のほどよろしくお願いいたします。

16. 百日咳・ボツリヌス

百日咳レファレンスセンター

1. 活動報告と計画
2. 国内外の百日咳流行状況
3. 令和6年度 百日咳遺伝子検査EQAプログラム

国立感染症研究所 細菌第二部 第一室
小出健太郎、後藤雅貴、大塚菜緒

1. 活動報告と計画

百日咳レファレンスセンター



計 10施設

* 今年度担当者に変更があったセンター

令和5年度の活動報告

● レファレンス関係の分与実績

レファレンス	地方衛生研究所		その他
	レファレンスセンター	地衛研	
<i>Bordetella holmesii</i> -LAMPキット	1		
4PlexリアルタイムPCRキット for Applied Biosystems	2	1	
イムPCRキット for Roche LC	1		
マクロライド耐性菌遺伝子検出キット		1	
<i>B. parapertussis</i> positive control DNA			1
計	4	2	1

● 百日咳に関する情報還元

- 病原体検出マニュアル 百日咳 第4.0版（2024年3月改訂）
- Kamachi K, Koide K, Otsuka N, Goto M, Kenri T. Whole-Genome Analysis of *Bordetella pertussis* MT27 Isolates from School-Associated Outbreaks: Single-Nucleotide Polymorphism Diversity and Threshold of the Outbreak Strains. *Microbiol Spectr*. 2023:e0406522.
- Otsuka N, Koide K, Goto M, Kamachi K, Kenri T. Fim3-dependent autoagglutination of *Bordetella pertussis*. *Scientific reports*. 2023;13(1):7629.

令和6年度の活動計画

1) 百日咳検査体制の強化・拡充（継続）

- 地方衛生研究所にレファレンスと検査キットの配布

マクロライド耐性菌遺伝子検出キットはレファレンスセンター以外の地研にも配布しています

- 百日咳レファレンスセンターを対象とした百日咳遺伝子検査EQAプログラム

NEW

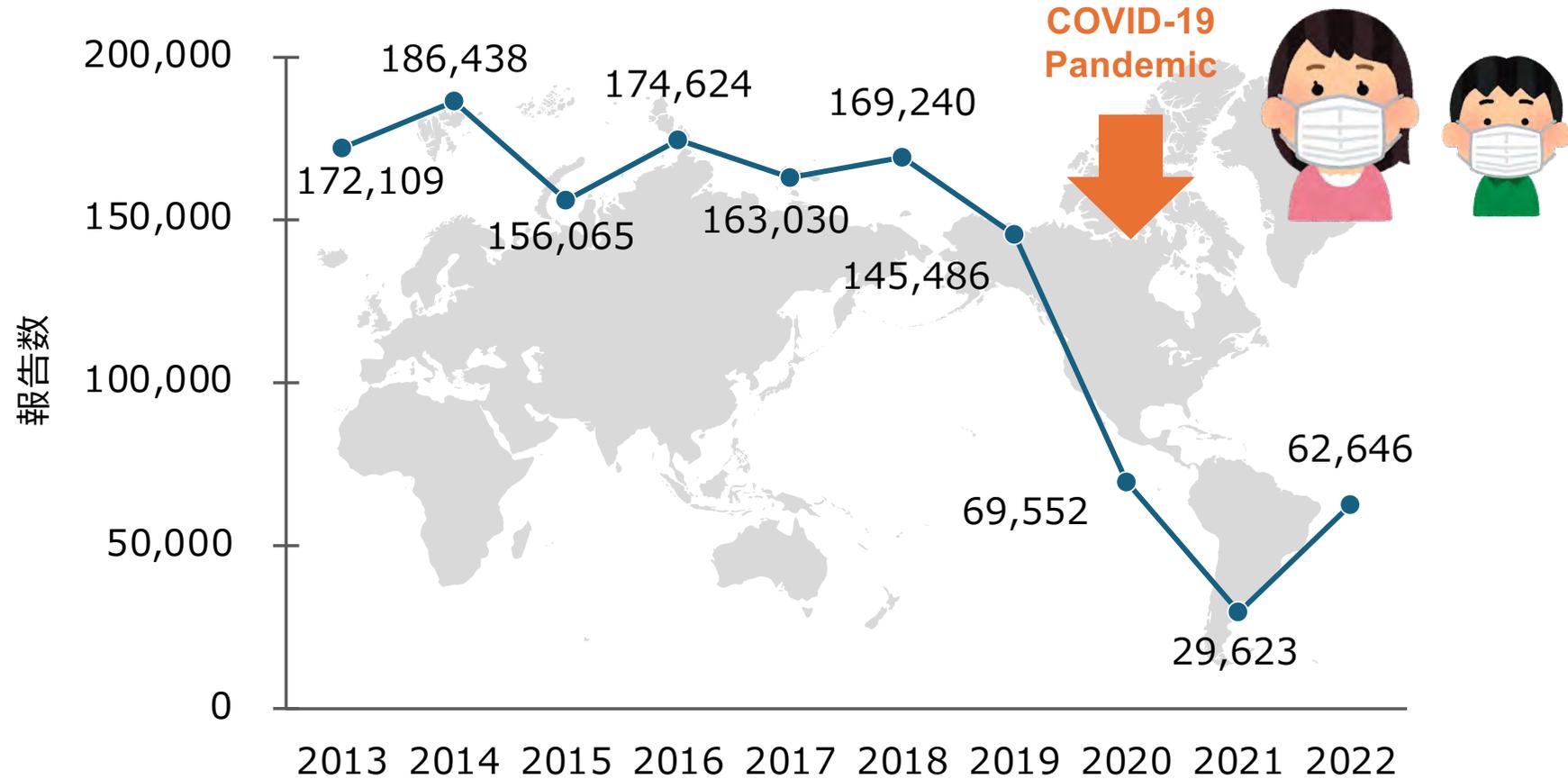
2) 百日咳病原体サーベイランス

- 百日咳流行株の分子疫学
- マクロライド耐性百日咳菌



2. 国内外の百日咳流行状況

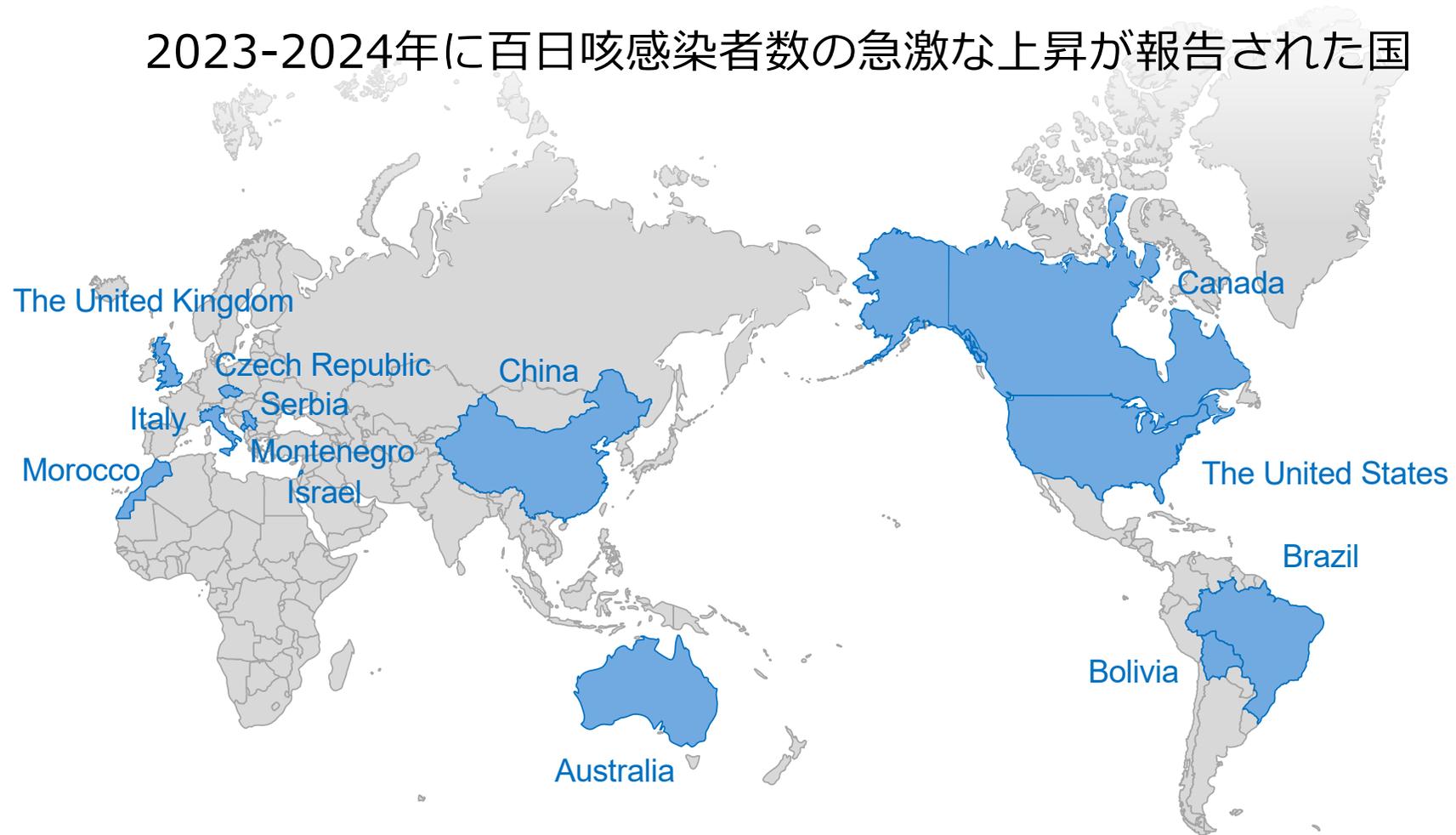
世界の百日咳報告数



https://apps.who.int/gho/data/node.main.WHS3_43?lang=en

世界の流行状況

2023-2024年に百日咳感染者数の急激な上昇が報告された国



<https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/increase-pertussis-cases-eueea> 他8報

世界の流行状況

2023-2024年に百日咳感染者数の急激な上昇が報告された国

BBC News



The screenshot shows the BBC News website interface. At the top, there is a navigation bar with categories like Home, News, Sport, Business, Innovation, Culture, Travel, Earth, Video, and Live. The main headline reads "Czech Republic struggles to contain surge of whooping cough" with a sub-headline "17 March 2024" and "By Rob Cameron, BBC News, Prague". Below the headline is a photograph of people wearing face masks on a cobblestone street in Prague. A small caption below the photo says "Some colleagues of Prague's mayor say he should have worn a face mask in public (the photo)". The article text begins with "Whooping cough is on the rise across Europe, and the Czech Republic is no exception. However, a week marked by confusion surrounding official guidance and a controversial public appearance by Prague's mayor has left some wondering if anything was learned from Covid-19." and continues with "In the first week of January, say the Czech authorities, there were 28 registered cases of whooping cough."

<https://www.bbc.com/news/world-europe-68591537>

TIME Magazine

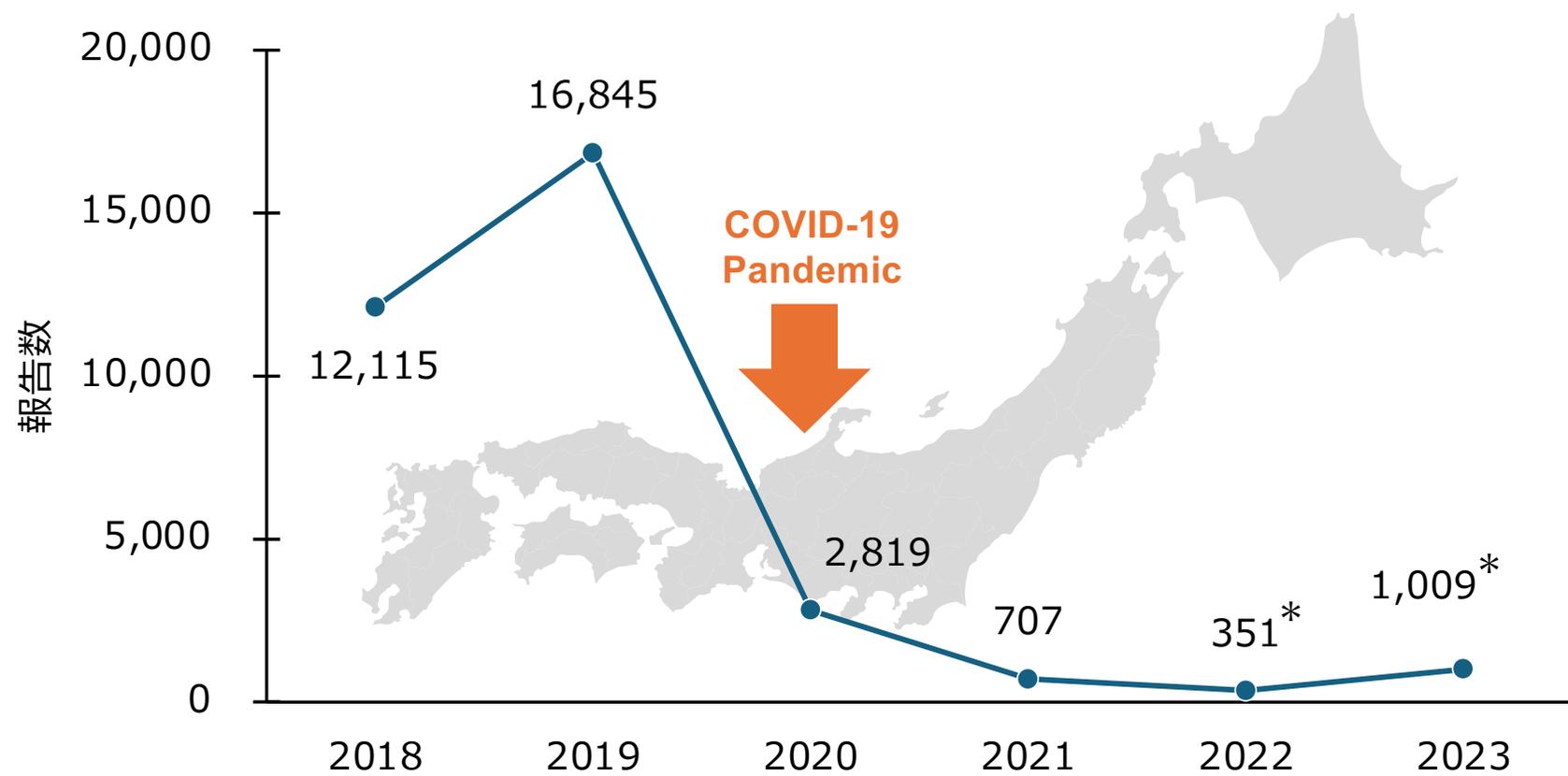


The screenshot shows the TIME Magazine website interface. At the top, there is a navigation bar with categories like Home, News, Entertainment, and a search bar. The main headline reads "Whooping Cough Is Surging in China With Tens of Thousands of Cases and Over a Dozen Deaths" with a sub-headline "3 MINUTE READ". Below the headline is a photograph of a person wearing a face mask. A small caption below the photo says "Getty Images". The article text begins with "Whooping cough is on the rise across Europe, and the Czech Republic is no exception. However, a week marked by confusion surrounding official guidance and a controversial public appearance by Prague's mayor has left some wondering if anything was learned from Covid-19." and continues with "In the first week of January, say the Czech authorities, there were 28 registered cases of whooping cough."

<https://time.com/6965680/china-whooping-cough-cases-surge/>

<https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/increase-pertussis-cases-eueea> 他8報

日本国内の百日咳報告数

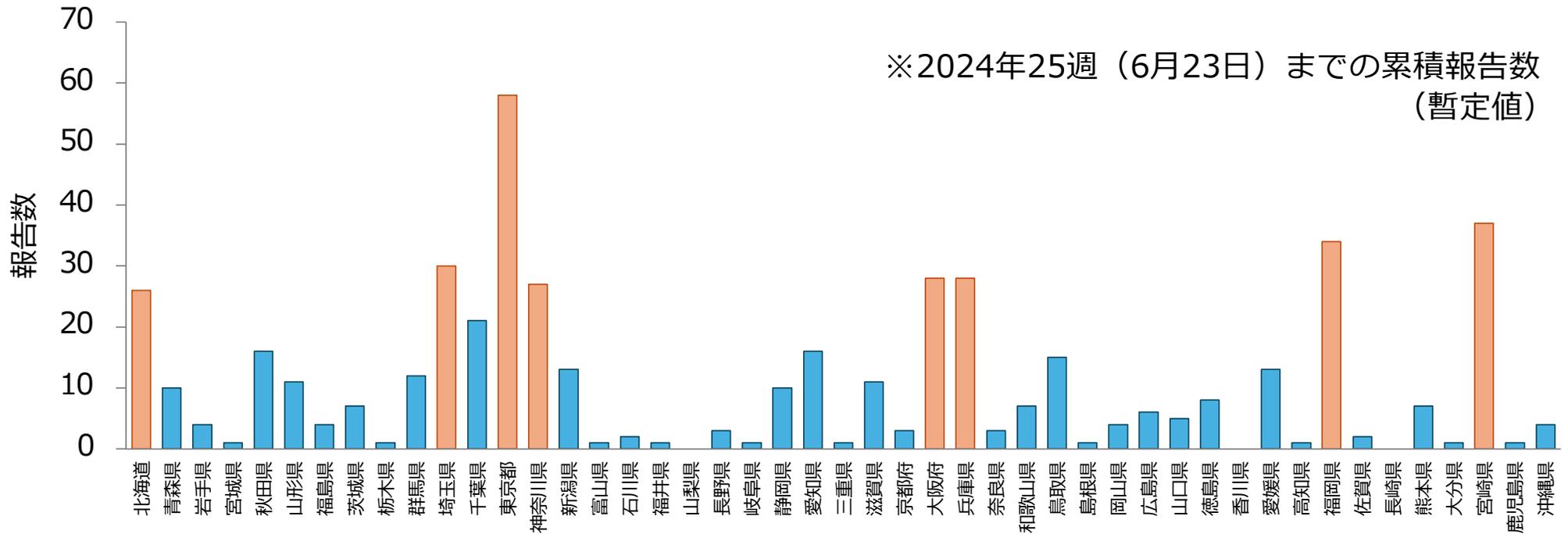


* 暫定値

<https://www.niid.go.jp/niid/ja/idwr.html>



2024年の日本国内での流行状況



- 人口の多い都道府県からは散発的な百日咳患者報告が続いている
- 人口10万人あたりの報告数は秋田、山形、鳥取、徳島、愛媛、宮崎で多い

世界的にパラ百日咳菌が流行

- パラ百日咳菌 (*B. parapertussis*)は 百日咳の原因菌のひとつ
- パラ百日咳菌と百日咳菌を臨床症状から鑑別することは不可能
- LAMP法では検出されない
- アメリカでは、2022年から2023年にかけて検出された*Bordetella spp.*の95%がパラ百日咳菌 (Noble BA, et al. Emerg Infect Dis. 2024)

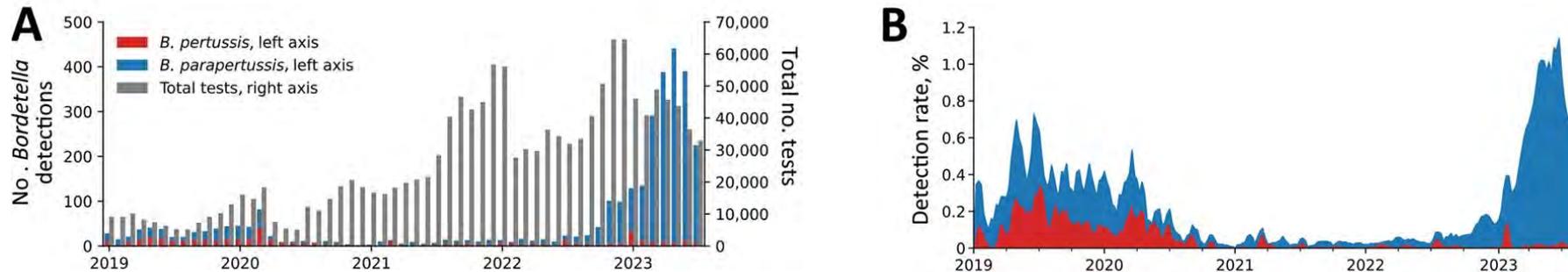


図. アメリカにおける百日咳菌およびパラ百日咳菌の検出数および検出率 (2019年1月~2023年7月)。A) 1ヵ月あたりの百日咳菌またはパラ百日咳菌の総検査数および陽性検査数。B) 百日咳菌およびパラ百日咳菌の検出率

Noble BA, et al. Emerg Infect Dis. 2024

3. 百日咳遺伝子検査EQAプログラム

※外部精度評価：External Quality Assessment, EQA



背景と目的

リアルタイムPCRをはじめとした百日咳の遺伝子検査は、感度・特異度・迅速性に優れ、市販装置・キットやin-house検査法が多く開発されている。百日咳レファレンスセンターでも遺伝子検査系を共同開発してきたが、これまで各機関における外部精度評価は実施されていなかった。

COVID-19流行とともに国内健常者における百日咳保有抗体価が低下しているとの指摘もあり、**現在は百日咳の流行リスクが高い状況**にある。

- 各地衛研において現在の百日咳検査の実施手順を確認する
- 百日咳菌(*B. pertussis*)検出の感度、特異度、再現性を評価する
- 百日咳菌と類縁菌 (*B. parapertussis*, *B. holmesii*) の鑑別ができるか評価する
- 検体受け入れから結果返却までにかかる時間等を確認し、各機関でより良い検査体制を考える

研究デザインと方法

もしかして

管内で百日咳集団感染が発生！病原体検査を依頼される…かもしれない！？

参加機関

- ・ 国立感染症研究所・細菌第二部
- ・ 百日咳レファレンスセンター（7機関の予定）

実施期間

2024年10～12月（予定）

検体

- ・ 国内臨床分離株の菌希釈液、陰性検体（生理食塩水のみ）：12検体
＜使用菌株＞

病原体	分離年	分離地域	菌株情報
<i>B. pertussis</i>	1950年代	関東	MT-83, <i>ptxP1-ptxA2-prn-1-fim3A</i>
<i>B. pertussis</i>	2016年	関東	MT-27a, <i>ptxP3-ptxA1-prn2-fim3A</i>
<i>B. parapertussis</i>	2023年	東海	MT-21
<i>B. holmesii</i>	2011年	九州	IS481(+), <i>recA_{BH}</i> (+)



①チルドゆうパック
検体送付



検体



500 µL/tube
(冷凍)



ドライアイス



②メールで結果の提出



検査結果をフォームに入力

③ゆうパック常温
輸送容器返却



※容器は年度内に返却してください

結果報告と解析



● 検査結果フォーム（見本）

令和6年度 厚労省科学研究費補助金「ムネと心」事業の一環として
百日後感染予防検査結果報告書

百日後検査報告書

試験機関名	
報告者氏名	
検査実施者人数	名 (※検査作業に関わった方のみ人数)
検体受取日	2024年 月 日
結果報告日	2024年 月 日

1. 検査方法に関する質問

DNA 抽出方法

a. ホール法
b. DNA 精製 (市販精製キットを使用した場合は製品名を記載)
c. その他 (具体的な方法を記載してください)

検査方法

a. 感染症 4Plex リアルタイム PCR 法
b. In-house リアルタイム PCR 法
c. 栄研化学 Loopamp 百日後感染検出試薬キット D
d. その他 (具体的な方法を記載してください)

以下、リアルタイム PCR 法を実施した場合に回答してください

リアルタイム PCR 装置

a. Applied Biosystems (機種名を記載してください)
b. Roche (機種名を記載してください)
c. その他 (メーカー・機種名を記載してください)

反応量

μL/well

UNG の使用

有・無

DNA 溶出量

μL (※DNA 精製を行った場合)

DNA 液添加量

μL/well

サイクル数設定

Cycles

a. UNG, Uracil-DNA Glycosylase: キャリーオーバーコンタミネーション防止剤

以下、in-house リアルタイム PCR 法を実施した場合に回答してください

ケミストリー

a. TaqMan
b. SYBR Green
c. その他

プライマー・プローブ合成会社

リアルタイム PCR マスター Mix

標的遺伝子

B. pertussis
B. paraptussis
B. holmesii

令和6年度 厚労省科学研究費補助金「ムネと心」事業の一環として
百日後感染予防検査結果報告書

2. 検査結果

サンプル番号	判定	同定菌種	Ct (Cp) または Tt	備考
P24-01				
P24-02				
P24-03				
P24-04				
P24-05				
P24-06				
P24-07				
P24-08				
P24-09				
P24-10				
P24-11				
P24-12				

a. 判定: 病原体が検出された場合は (+)、検出されなかった場合は (-) と入力
b. リアルタイム PCR 法の場合はターゲット遺伝子ごとの Ct (または Cp) 値、LAMP 法の場合は Tt 値を記載する。1 サンプルあたり複数ウェル実施した場合は、平均値を記載する
c. 各サンプルについて追記したいことがあれば自由に記載してください

3. 自由記述欄

本検査報告書は国立感染症研究所細菌第二部・大塚宛 (notsuka@niid.go.jp) にメール添付でご提出ください。

提出締切: 2024年x月xx日 (x) 12:00

- 感染研にて結果を集計
- 機関名を匿名化して個別の機関番号とともに担当者に結果を返却
- 今年度の厚労科研報告書で結果を報告する予定

その他

書類

BSL2 実験室確認書

本EQAプログラムは
「地方衛生研究所への研究・検査依頼」に該当する
↓
地衛研から実験室確認書を取り寄せておく必要がある

※2017年4月1日より実験室平面図等の書類は不要になり
実験室確認書のための提出になりました
(年度内に1度提出していればOK)

参加機関には後日様式をお送りします

(分与様式5 添付書類)

年 月 日

BSL2 (3) 実験室確認書

実験室名: _____

上記 実験室はBSL2 (3) 実験室としての設備および運営の要件を満たしています。

なお、以下に該当する場合、

- (1) 特定病原体等の場合、所持許可 (二種) を得ている、又は届出 (三種) をしている (或いは受領後届出予定)
- (2) 監視伝染病原体の場合、所持許可 (重点管理、又は要管理) を得ている、又は届出をしている (或いは受領後届出予定)
- (3) 遺伝子組換え生物の場合、実験承認を得ている

ことを確認しています。

バイオセーフティ管理者 (またはそれに該当する方)

所属機関: _____
役職: _____
氏名: _____ (記名押印 または 自筆署名)

注: NH0 コラボレーションセンターを除く、検査研究依頼時に依頼先施設に作成を依頼する。

おわりに

百日咳病原体サーベイランス 強化中！

百日咳菌・類縁菌の菌株収集およびマクロライド耐性遺伝子変異の調査へのご協力をよろしく申し上げます！

※マクロライド耐性菌遺伝子検出キットはレファレンスセンター以外の地研にも配布しています

※分与いただいた菌株は感染研で遺伝子型等を解析し、解析結果をお返しします



百日咳に関するご相談・お問い合わせは
細菌第二部・第一室までご連絡ください。

百日咳・ボツリヌスレファレンスセンター会議

2024.7.10

ボツリヌス症レファレンスセンター

**北海道立衛生研究所
千葉県衛生研究所
三重県保健環境研究所
愛媛県立衛生環境研究所
沖縄県衛生環境研究所**

**福島県衛生研究所
神奈川県衛生研究所
岡山県環境保健センター
福岡県保健環境研究所
国立医薬品食品衛生研究所**

**東京都健康安全研究センター
大阪健康安全基盤研究所
山口県環境保健センター
熊本県保健環境科学研究所
国立感染症研究所**

ボツリヌス症：**ボツリヌス神経毒素**によって起こる全身の神経麻痺を生じる神経中毒疾患である。

原因菌：*Clostridium botulinum* (A-F型毒素)
Clostridium argentinense (G型毒素)
Clostridium butyricum (E型類似毒素)
Clostridium baratii (F型類似毒素)

症状：**ボツリヌス神経毒素**はコリン作動性神経末端からの**アセチルコリン**の放出を抑制し、その結果、神経から筋肉への伝達が障害され、麻痺に至る。典型的な臨床症状は、**眼瞼下垂、複視、嚥下障害、構音障害、口内乾燥**等がある。意識は鮮明であり、感覚障害はなく、**通常発熱はない**。嘔吐、腹痛、下痢等があってもすぐに**便秘**になる。

病型：
1) **食餌性ボツリヌス症**
2) **乳児ボツリヌス症**
3) **創傷ボツリヌス症**
4) **成人腸管定着ボツリヌス症**
5) その他（医療行為による感染、実験室内感染、バイオテロによる感染）

治療：**乾燥ボツリヌスウマ抗毒素**の投与。ただし、**乳児ボツリヌス症**の場合は対症療法を行い、**乾燥ボツリヌスウマ抗毒素**は使用しない。

ヒトでボツリヌス症を引き起こすボツリヌス神経毒素は、主に**A型、B型、E型**、まれに**F型**である。

食餌性ボツリヌス症（ボツリヌス食中毒）

ボツリヌス食中毒は、食品内に混入したボツリヌス菌芽胞が、嫌気状態の食品内で発芽、増殖し、産生された**ボツリヌス毒素を食品とともに摂取**することにより発症する。ボツリヌス菌芽胞は、土壌、湖沼などに広く分布し、果物、野菜、肉、魚が汚染され得る。

原因食品：**真空パック詰め食品、缶詰、瓶詰、発酵食品**

発生年	発生場所	患者数	原因食品	毒素型
1984	14都府県	36	カラシレンコン（真空パック）	A
1984	青森県	1	鰯のいずし	E
1984	足利市	1	不明	B
1984	釧路市	6	ハタハタ・鮭のいずし	E
1985	函館市	1	鰯のいずし	E
1988	備前市	1	不明	A
1988	札幌市	3	自家製鮭の調味乾燥品	E
1989	釧路市	1	ニシンのいずし	E
1989	滋賀県	3	ハスずし	E
1989	名寄市	2	カレイのいずし	E
1991	青森県	1	ウグイのいずし	E
1991	広島市	1	不明	A
1991	青森県	1	アユのいずし	E
1993	秋田県	4	里芋（缶詰）	A
1993	高槻市	1	不明	不明
1995	青森県	1	コハダのいずし	E
1995	青森県	3	ウグイのいずし	E

発生年	発生場所	患者数	原因食品	毒素型
1995	北海道	6	鮭のいずし	E
1996	茂原市	1	不明	A
1997	福島県	3	ハヤのいずし	E
1997	福島県	1	イワナのいずし	E
1998	東京都	18	グリーンオリーブ（瓶詰）	B
1999	大阪市	1	不明	A
1999	柏市	1	ハヤシライスの具（真空パック）	A
1999	東京都	1	不明	A
2007	岩手県	1	アユのいずし	E
2012	鳥取県	2	あずきばっとう（真空パック）	A
2016	奈良市	1	不明	A
2017	福山市	1	不明	B
2019	埼玉県	1	不明	A
2021	東京都	1	不明（真空パック食品）	F*
2021	熊本県	3	不明（白米もしくは市販の惣菜）	C
2022	東京都	1	アユのいずし	E

*F型毒素産生性 *Clostridium baratii* による感染

乳児ボツリヌス症

乳児ボツリヌス症は、生後1年未満の乳児がボツリヌス菌芽胞を経口的に摂取した場合、乳児の消化管内で増殖した菌により産生されたボツリヌス神経毒素の作用により発症する。典型的な症状に加え、不活発、哺乳力低下、泣き声の減弱等の症状が認められる。

原因：蜂蜜の摂取、環境中のボツリヌス菌の摂取

発生年	患者数	蜂蜜摂取歴			毒素型			
		あり	なし	不明	A	B	E	不明
1986	1	1			1			
1987	9	9			6			3
1989	2	2			2			
1990	1			1				1
1992	1			1	1			
1995	1		1			1		
1996	1		1		1			
1999	1		1		1			
2004	1		1				1*	
2005	2		2		1	1		
2006	2		2		1	1		
2007	2		2		2			
2008	1		1		1			
2010	1		1		1			
2011	5		5		3	2		
2015	1		1				1*	
2016	3		2	1	1	2		
2017	3	1	2		3			
2018	1		1			1		
2019	1		1			1		
2020	2		2			2		
2021	1		1		1			

* 2例ともE型毒素産生性*Clostridium butyricum*による感染

乳児ボツリヌス症

乳児ボツリヌス症は、生後1年未満の乳児がボツリヌス菌芽胞を経口的に摂取した場合、乳児の消化管内で増殖した菌により産生されたボツリヌス神経毒素の作用により発症する。典型的な症状に加え、不活発、哺乳力低下、泣き声の減弱等の症状が認められる。

原因：蜂蜜の摂取、環境中のボツリヌス菌の摂取

成人腸管定着ボツリヌス症

成人や1歳以上の小児において、乳児ボツリヌス症と同様の病態で、ボツリヌス毒素産生菌が消化管内で増殖し産生されたボツリヌス神経毒素の作用により発症する。消化管に器質的あるいは機能的異常がある場合や、抗生薬使用等による消化管で腸内細菌叢の攪乱が認められる場合が多い。

日本では、2016年から2020年までに計2例の成人腸管定着ボツリヌス症の届出があり、1例は5歳の基礎疾患を持つ小児で、もう1例は臓器移植歴のある成人であった。2例ともA型ボツリヌス菌による感染であった。

1996	1		1		1				2017	3		1	2		3		
1999	1		1		1				2018	1			1			1	
2004	1		1				1*		2019	1			1			1	
2005	2		2		1	1			2020	2			2			2	
2006	2		2		1	1			2021	1			1		1		

* 2例ともE型毒素産生性*Clostridium butyricum*による感染

ボツリヌスといえば**蜂蜜**ではない！

- 食餌性ボツリヌス症の原因に蜂蜜は含まれない。蜂蜜は乳児ボツリヌス症の明らかな原因食品であるが、蜂蜜を食べていない症例の方が多数のため、**蜂蜜を食べていない=ボツリヌス症ではない**、とはならない。また、蜂蜜からボツリヌス菌が分離されても、その蜂蜜を市場から回収する必要はない。

患者が**1歳以上**の場合、まず**食中毒**を疑う！

- 第二、第三の症例を出さないため、食歴調査を行い、原因食品を突き止める必要がある。患者が食べた**食品の残りを廃棄せず、保管**することが大事！

乳児ボツリヌス症の患児は**回復後の排泄ケア**に注意！

- 乳児ボツリヌス症では、乳児の腸内でボツリヌス菌が増殖するため、乳児が回復したあとも、数週間から数ヶ月間、便とともにボツリヌス菌が排泄される。そのため、保育園など他に1歳未満の乳児がいる場では、**オムツ交換時に周囲の環境を便で汚さない**ようにする。ボツリヌス菌は、芽胞を作るため、アルコールなどの消毒薬が無効のため、石けんと流水での手洗いが必須。

「細菌学的検査」

検体： **血清（抗毒素投与前）**
糞便（便秘のため取り難いが、わずかでもいいのでなんとか取ってもらう）

試験：

＜マウス試験法＞

- ①処理した検体（血清、糞便）について、診断用抗毒素と混合したサンプル（中和サンプル）と混合していないサンプル（非中和サンプル）を調製し、マウス腹腔へ接種し、症状を観察する。
- ②糞便を培地に播種し、30℃（もしくは37℃）で5日間静置培養した培養上清について中和サンプルと非中和サンプルを調製し、マウス腹腔へ接種し、症状を観察する。



＜リパーゼ産性能の確認＞

糞便を培養した培地をブルセラHK卵黄寒天培地に播種し、嫌氣的条件下で30℃（もしくは37℃）、48時間培養し、リパーゼ産性能を確認する。

＜毒素遺伝子の検出＞

ブルセラHK卵黄寒天培地上のコロニーのDNAを抽出し、毒素遺伝子の有無をPCRにて確認する。



ボツリヌス症の細菌学的検査に関する講習会

- ・ 稀少感染症であること、動物実験を必要とすることから、検査の技術継承が難しい
- ・ 「動物実験」を中心に講習会を開催。
- ・ 2018年度より、参加者によるマウス接種実施開始。
- ・ 参加をご希望の場合は、細菌第二部第三室 妹尾 (senoh@niid.go.jp)
油谷 (yutanim@niid.go.jp)

第10回講習会
2024年11月予定
参加者募集中

<細菌第二部ミーティング室>

13:30- バイオセーフティ講習

14:30- 動物実験講習

15:30- ポツリヌス症の細菌学的検査について（検査の流れ、マウス試験、PCR）

<1号棟213室>

16:00- ポツリヌス菌の取り扱い、213号室設備の説明など

16:20- ① cooked meatからブルセラHK卵黄寒天に接種

② 診断用抗毒素の溶解

③ マウス試験用検体の調製 → 5日間培養したcooked meatの培養上清を用いてサンプル調製(x2, x10, x100、トリプシン処理まで)

18:00 解散

<1号棟213室>

9:00- トリプシン処理したサンプルに抗毒素添加

<動物舎2号棟206号室>

9:30- マウスへの接種

12:00- 昼食

13:00- マウス観察：接種2時間後の症状

14:00- コロニー観察など

16:00- マウス観察：接種5時間後の症状

17:00 解散

<動物舎2号棟206号室>

9:00- マウス観察：接種一晩後の症状

<1号棟213室>

10:00- コロニーの観察

<細菌第二部ミーティング室>

10:30- 総合討論

12:00- 解散

← 座学

← サンプル調製(前半)

← サンプル調製(後半)

← マウスへの接種

← マウスの観察(接種2, 5時間後)

← マウスの観察(接種1日後)

接種者1				
墨汁			4	
①培養上清	x2	非中和	2	ケージ1
	x2	ABEF中和	2	(8匹)
	x10	非中和	2	
	x10	ABEF中和	2	
	x100	非中和	2	ケージ2
	x100	ABEF中和	2	(12匹)
	x100	A中和	2	
	x100	B中和	2	
	x100	E中和	2	
	x100	F中和	2	

墨汁を用いて腹腔内投与の練習



検体：ボツリヌス菌培養上清

抗毒素：A, B, E, F型ボツリヌス抗毒素

マウス法の結果からどの型の毒素を産生するボツリヌス菌の培養上清であったか考察する。

ボツリヌス症の細菌学的検査に必要な試薬の配布

- **A、B、E、F型の診断用抗毒素**は、ご要望に応じて配布していますので、ご連絡ください。
- **C、D、G型の診断用抗毒素**は国立感染症研究所に保存してあります。**C、D、G型毒素産生性ボツリヌス症を疑う**場合はご連絡ください。
- ボツリヌス毒素遺伝子検出用PCRのための、**陽性コントロール**が必要な場合はご連絡ください。

問い合わせ先：細菌第二部第三室 妹尾 (senoh@niid.go.jp)
油谷 (yutanim@niid.go.jp)

海外のボツリヌス症事例

ボツリヌス症の病型

病型	毒素の産生現場	発生まで
食餌性ボツリヌス症	食品中	食品中で菌が増殖、毒素を産生し、人（宿主）がこれを喫食する。
乳児ボツリヌス症 成人腸管定着性ボツリヌス症	宿主腸管	芽胞が人（宿主）腸管内で発芽・増殖し、毒素を産生する。
創傷性ボツリヌス症	創傷部位	菌が創傷部位で増殖し、毒素を産生する。
医原性ボツリヌス症	その他（医薬品）	医薬品としてのボツリヌス毒素を、誤った使用方法（過剰量など）で投与する。
(吸入ボツリヌス症)	—	(毒素を含んだエアロゾルの吸入)

食餌性ボツリヌス症の例

(状況が特殊であった例)

スポーツ世界大会開催中、開催地で発生



Disease Outbreak News

Botulism - France

2023年9月

患者数：15人（10人が入院、8人がICUに入院、1人死亡）

フランスにあるレストランの自家製食品が原因とされた。

原因(被疑)食品、一部の患者血清、一部の患者糞便からB型ボツリヌス毒素、B型毒素遺伝子陽性*C. botulinum*が検出された。

患者国籍：15名中14名が外国籍（カナダ、ドイツ、ギリシャ、アイルランド、イギリス、アメリカ）

クレジットカードの利用履歴等から、25人が当該食品を喫食したと考えられた。

フランスではラグビーワールドカップの開催期間中であった。

レストランに外国人観光客が集まることからフランス国内外で症例が発生する可能性が呼びかけられた。

CM Léa *et al.* **Euro Surveill.** 2023 Oct 12; 28(41): 2300513.

WHOサイト：<https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2023-DON489>

食餌性ボツリヌス症の例

(大規模アウトブレイク例)

2006年 タイ

患者数：209名 (入院 134例、人工呼吸管理 42例、死者なし)

原因食品：自家製のタケノコ水煮缶詰

(「嫌気培養とPCR法によりボツリヌス菌およびA型ボツリヌス毒素を検出」)

IASR, Vol. 29 p. 45-46: 2008年2月号 <https://idsc.niid.go.jp/iasr/29/336/dj3368.html>

2024年 ロシア (一般報道から得た情報)

患者数：6/24までに入院した患者合計 369名 (6/24時点での入院218例、うち人工呼吸管理 38例)、死者 1名

原因食品：市販の真空包装豆サラダ (A型毒素が検出されたとのこと)

患者検体 (詳細不明) からA型毒素が検出されたとのこと

アメリカ ABC News <https://abcnews.go.com/International/wireStory/botulism-outbreak-russia-leaves-1-dead-scores-hospitalized-111396572>

ロシア business-gazeta <https://m.business-gazeta.ru/news/638266>

創傷性ボツリヌス症

米国CDCウェブサイトにある情報

<https://www.cdc.gov/botulism/risk-factors/wound-botulism.html>

- 違法薬物注射と関連づけて注意喚起を行なっている。
 - ・「違法薬物の注射でボツリヌス中毒になることがあります。」
 - ・「ボツリヌス中毒の症状がある場合は、直ちに医療従事者の医師の診察を受けるか、救急外来を受診してください。」
 - ・「医療提供者に、過去2週間に使用した違法薬物とその使用方法を伝えてください。」
- リスクのある行為として挙げられているもの。
 - ・違法薬物を皮下に注射する（「スキンプッピング」）。
 - ・違法薬物を筋肉に注射する（「マッスルポッピング」または「マッスリング」）。
 - ・ブラックタールヘロインを注射する。
- 「創傷ボツリヌス症の症状は通常、すぐには現れません。通常、数日から2週間以内に症状が現れます。」
- 「症状がオピオイド過剰摂取のように見えることがあります。」
言葉が不明瞭になったり、話すことができなくなったり、脱力感、呼吸困難などがある。
- 「創傷ボツリヌス症は、他の一般的な病気と間違われることがあります。」
「医師は、あなたが注射薬を使用しているかどうかを知る必要があります、それによって迅速かつ的確な診断と治療を受けることができます。」

注射器
不衛生, 複数回使用

創傷性ボツリヌス症の例

(薬物使用／それ以外の創傷による感染例)



IASR Vol.21 No.3 March 2000

外国情報

創傷性ボツリヌス症 (ヨーロッパ)

1999年の最終週から4例の創傷性ボツリヌス症患者がスイスの北東部(ドイツ語圏)で発生している。4例とも注射薬物濫用者で、血清中からボツリヌス毒素は検出されなかったが、このうち3人の皮下膿瘍からClostridium botulinumが検出された。分離された菌はいずれも毒素産生菌で、毒素型別のためPHLS食品安全微生物研究所に送られた。これらの症例を加えるとスイスでは1998年9月から創傷性ボツリヌス症は9例になる。すべての患者は北東部の注射薬物濫用者である。初めの5例は微生物学的には確定されておらず、皮下膿瘍からは毒素非産生性のC. sporogenesが分離されていた。

ヘロインの静注よりも皮下注射がこの感染症の発生に関係があると考えられ、膿瘍からはC. perfringensやC. botulinum、C. baratii、C. sporogenes等が分離される。臨床的特徴は古典的ボツリヌス症とは異なるが、中には長期間の人工呼吸器を要する例もある。2人の患者は初診から1週間経過しており、通常効果は期待されないが、多価抗毒素(抗-A、B、E)で治療され、治癒した。

Enter-Netの参加者からの報告はこの期間中にはなかった。1999年にEU諸国で出版されたボツリヌスに関するレビューによると、1988～1999年には創傷性ボツリヌス症はイタリアで1例報告されたのみであった。1979年からイタリアでは3例の確診例と、1例の臨床診断例(すべて男性)が報告されている。これらすべての感染例は職場での感染である(建設現場や農業など)。1997年にノルウェーで見られた3例はいずれも注射薬物濫用者であった。

(Eurosurveillance Weekly, No.5, 2000)

<https://idsc.niid.go.jp/iasr/21/241/tpc241-j.html>

<https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/esw.04.05.01666-en>

医源性ボツリヌス症の例 (1)

非医療環境における偽造ボツリヌス毒素製剤の使用

症状発現日：2023年11月4日から2024年3月31日まで

患者数：22人（25歳から59歳の女性、米国11州・市）

全員が、**無免許または訓練を受けていない個人、または自宅やスパなどの非医療環境**でボツリヌス毒素注射を受けた。

22人全員において、症状は曝露後中央値で3日後（範囲0~20日）に始まり、注射部位付近の症状（例えば、顔面注射後の目のかすみや眼瞼下垂）、口の渇き、不明瞭な言語、息切れ、疲労、全身の脱力感などがあった。情報が得られた20人のうち、**11人（55%）が入院した。死亡者なし。**22人の有症者のうち6人は、ボツリヌス中毒の疑いでボツリヌス抗毒素を投与された。

米国CDCウェブサイトより <https://emergency.cdc.gov/han/2024/han00507.asp>

報告があった州・市

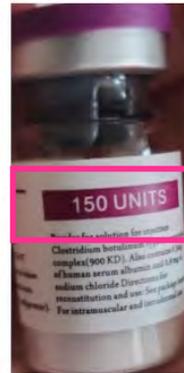


Counterfeit Package



見つかった偽造品

Counterfeit Vial



実際には製造されていない【150単位】というものが見つかった

(240711追加情報) このバッチ番号は、2017年8月に有効期限が切れた正規の100単位の製品に振られていたもの、とのこと。

米国FDAウェブサイトより <https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/counterfeit-version-botox-found-multiple-states#images>

2024.07.11追加情報 https://www.cdc.gov/mmwr/volumes/73/wr/mm7327a3.htm?s_cid=mm7327a3_w

本物

Authentic Botox Product Outer Cartons



医原性ボツリヌス症の例 (2)

過剰量投与

発生日：2023年2月下旬～3月30日

患者数：87人（ヨーロッパ5カ国）

死者はいない模様。症状の範囲は中～重度。
重症者のうち一部はICUに入り、抗毒素が投与された。

Intragastric Botulinum Toxin A Injection, Botulinum Toxin Gastric Injection

肥満対策として、胃の動きを抑制する目的で胃に～250 単位程度のボツリヌス毒素を投与する。

- ・ドイツの発表によると、ドイツの患者では**1,000 ~ 2,500 単位/患者** が投与されていた。
- ・トルコにある医療機関（2機関）にて実施された（適応外使用）。患者はそれぞれの国から渡航して投与を受けた。



MB Dorner *et al.*, **Euro Surveill.** 2023 Jun 8; 28(23): 2300203.

N Jain *et al.*, **New Microbes New Infect.** 2023 Jun; 53: 101152.

ECDCサイト：<https://www.ecdc.europa.eu/en/news-events/botulism-iatrogenic-update-cases-europe-march-2023>

17. 動物由来感染症

衛生微生物技術協議会第44回研究会
2024年7月10日9:00-9:55 タワーホール船橋406会議室

動物由来感染症

国立感染症研究所

獣医科学部

井上雄介, 堀田明豊, 前田 健

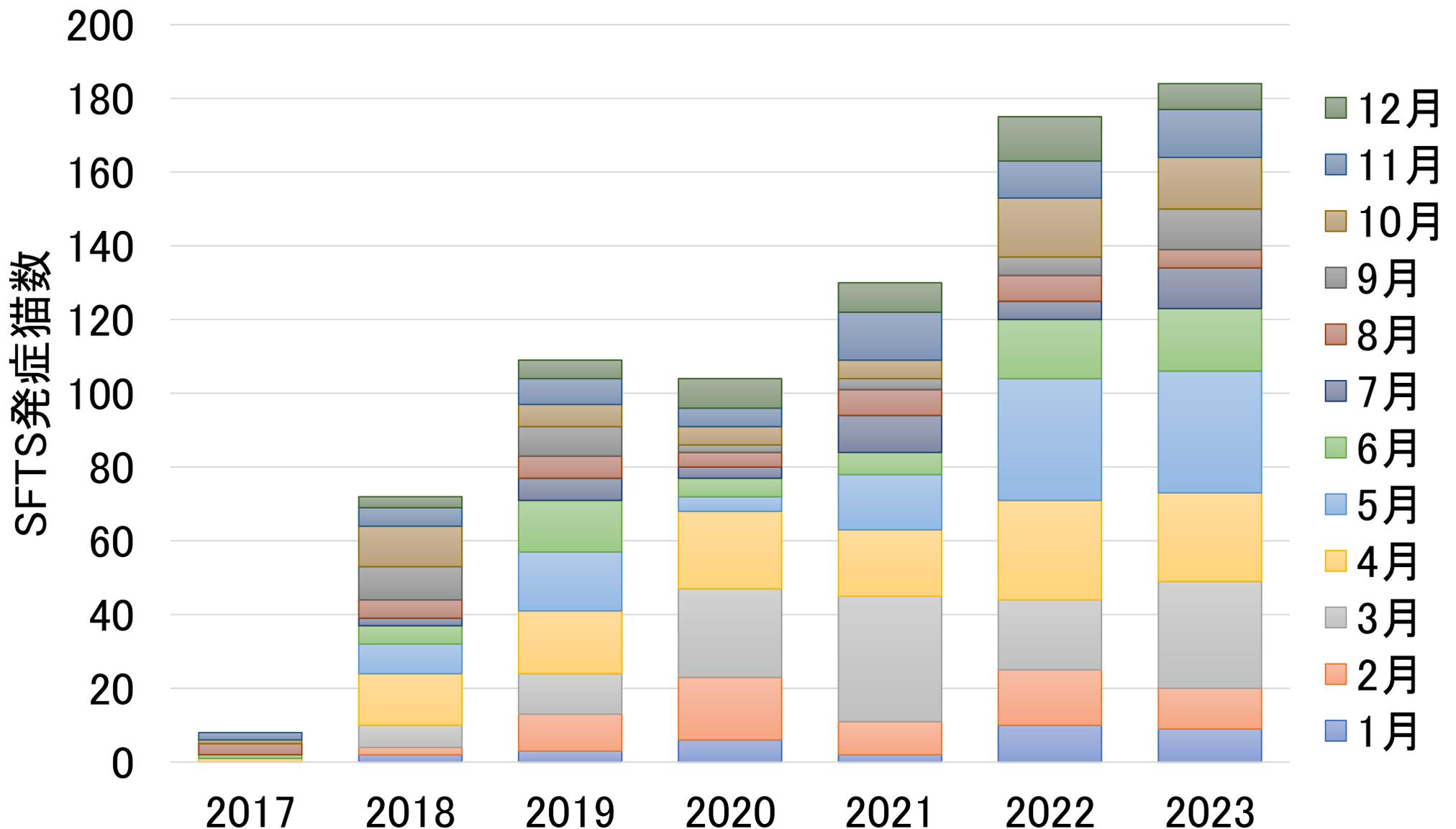
発表内容

- SFTS概要
- R6年度:レフェレンスセンター研修会
- R5年度:レファレンスセンター研修会報告
- 狂犬病診断用抗原スライド配布
- 狂犬病ブロック技術研修会について

発表内容

- SFTS概要
- R6年度:レフェレンスセンター研修会
- R5年度:レファレンスセンター研修会報告
- 狂犬病診断用抗原スライド配布
- 狂犬病ブロック技術研修会について

猫におけるSFTS発生状況：月別

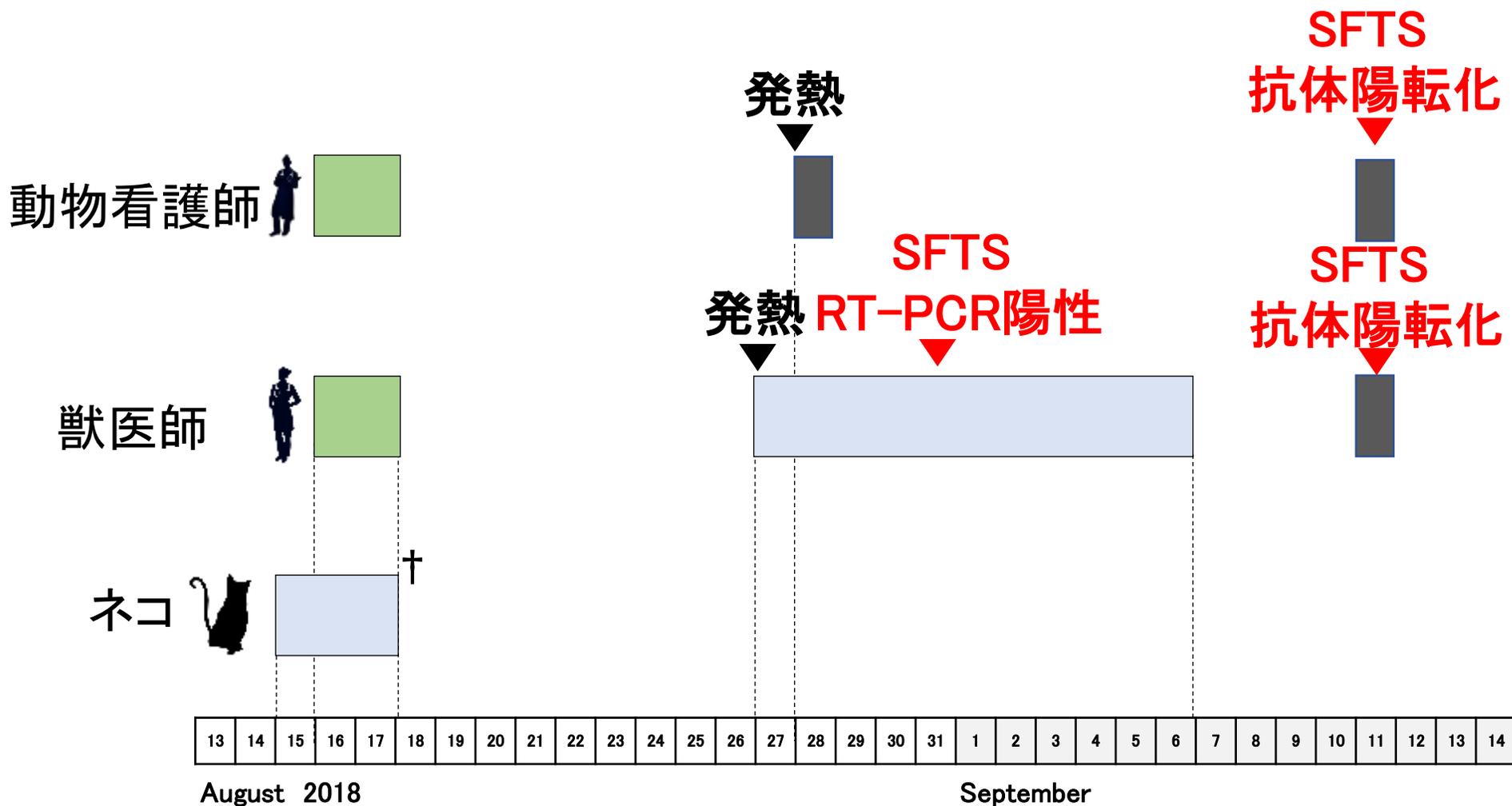


(2023年12月31日現在)

SFTS発症動物の臨床症状

	ネコ	イヌ
元気・食欲低下	100%	100%
発熱 (39°C以上)	73.2%	92%
白血球数減少	83.6%	83%
血小板数減少	99.2%	100%
黄疸	96%	0%
総ビリルビン上昇	94.4%	50%
CRP上昇	No data	100%
死亡率	66%	40%

SFTS ネコ-ヒト感染事例 経過



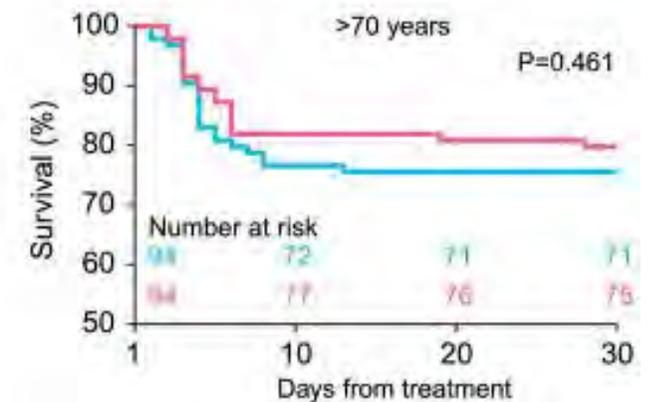
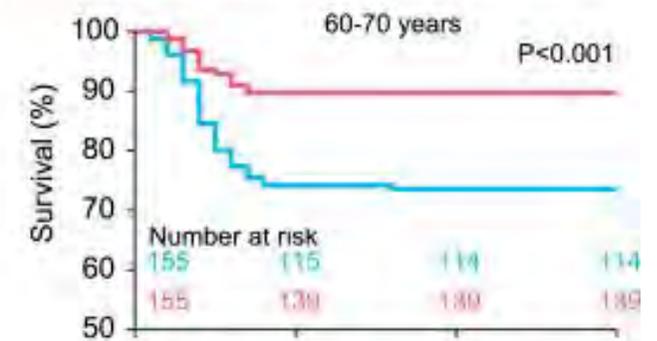
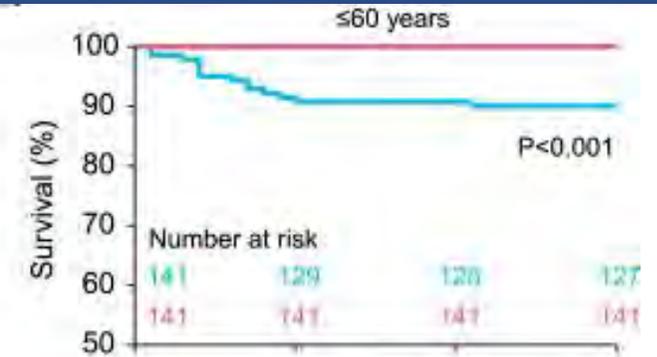
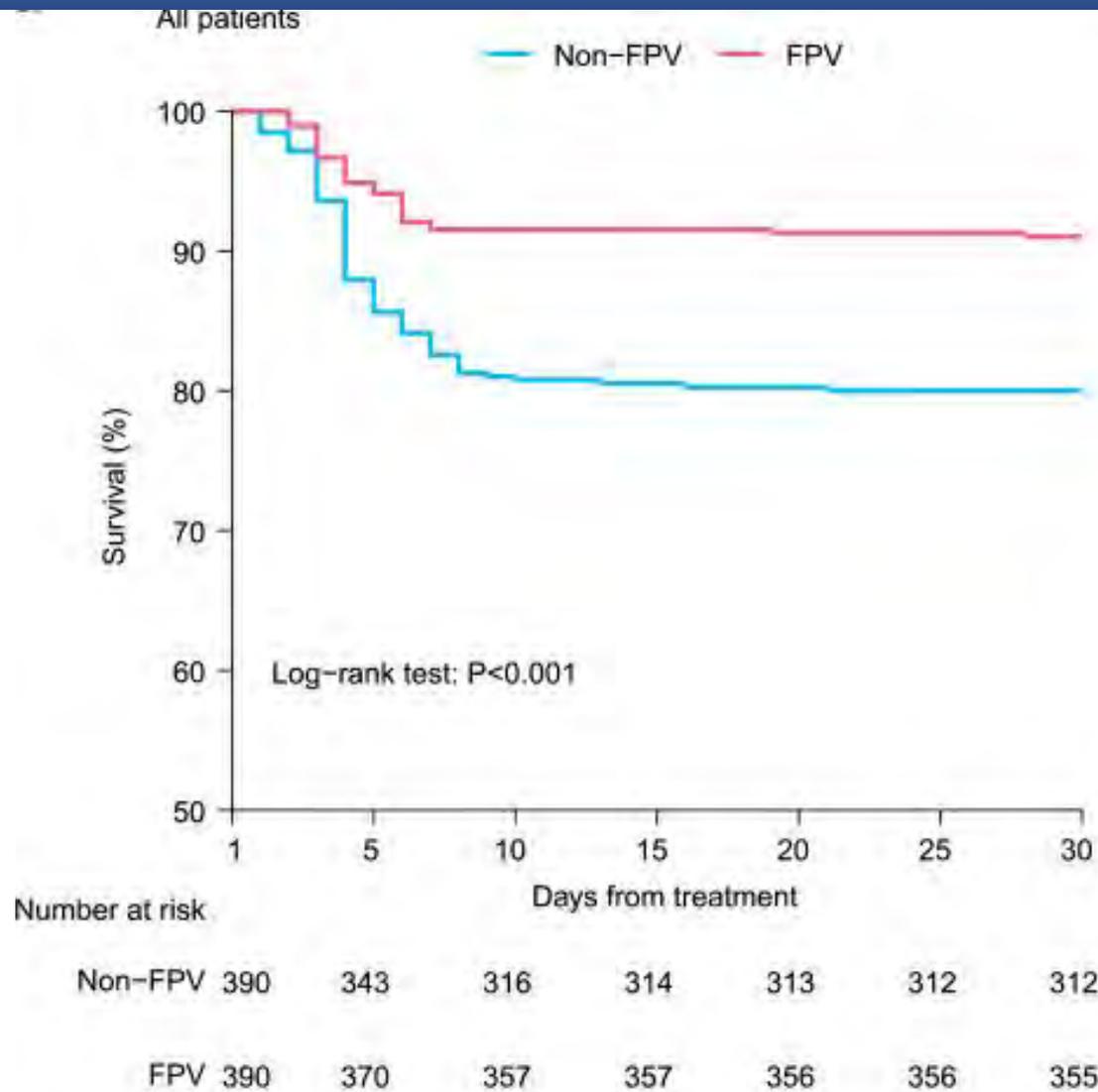
■ : ネコとの接触期間 ■ : 入院 ■ : 外来受診

動物から獣医療従事者への感染届出症例

発病年	性別	年齢	感染地域(推定または確定)
2018	女	40代	九州地方
	女	20代	九州地方
	男	20代	中国地方
2019	女	50代	九州地方
2020	男	30代	中国地方
2021	男	60代	中国地方
	男	60代	中国地方
	男	60代	四国地方
2022	女	50代	九州地方
	男	60代	中国地方
2023	女	30代	中国地方

2023年7月31日現在

ファビピラビルは有効



動物からヒトへの感染防止のための取り組み

獣医療関係者の SFTS 発症動物対策について(2024 年バージョン)

病原体検出マニュアル

重症熱性血小板減少症候群(SFTS)ウイルス

(動物由来検体)

第1版

令和5年3月

AMED研究班「重篤な愛玩動物由来感染症に対する総合対策に関する研究」の分担研究開発において、山口県環境保健センターの調及び各地衛研の研究開発協力者により地方衛生研究所における動物のSFTS検査法を確立

原因

SFTS(Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome)は、高熱と白血球減少、血小板減少(thrombocytopenia)を主徴とする重篤な熱性疾患として中国で2011年に報告された。マダニ媒介性の新興感染症 Emerging Infectious Disease である。フニヤウイルス目フェヌイウイルス科バンダウイルス属に分類される新規ウイルス(SFTSウイルス)によって引き起こされる。

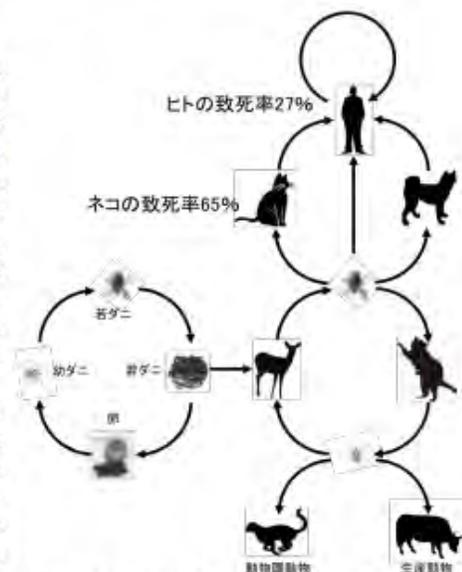
SFTSウイルスはマダニの吸血によってヒトや動物に伝播するアルボ(節足動物媒介)ウイルスである。同じフェヌイウイルス科にはリフトバレー熱ウイルスなどの蚊・サシチョウバエといった吸血昆虫によって媒介されるウイルスが含まれている。これらのウイルスは共通して節足動物の吸血の際の伝播を基本様式としつつ、感染動物の体液などを介した濃厚接触によっても伝播しうるため、特に動物との接触機会の多い獣医療関係者は注意が必要である。

SFTSウイルス粒子は約110nmの球形であり、エンベロープを持ち、粒子内にウイルスタンパク質に覆われた3分節のマイナス鎖RNAを有している。エンベロープウイルスは一般的に界面活性剤に弱く、SFTSウイルスも同様に消毒液により失活しやすいウイルスである。複数の遺伝子型の報告があるものの、異なる抗原性のウイルスが出現した報告はなく、単一の抗原型を有すると考えられている。また、分節ウイルスであるため、遺伝子再集合(リアソータント)により異なるウイルスの遺伝子を獲得した報告はこれまでにない。

動物における SFTS

動物におけるSFTSの調査は各国で行われており、患者発生地域では野生動物・家畜共に抗体保有率が高く、さまざまな動物種がSFTSウイルス感染に感受性であることが分かっている。また、患者発生地域外であっても抗体陽性の野生動物が見つかることから、これまで患者発生の報告がない地域においても、SFTSウイルスに感染した動物が動物病院等に持ち込まれる可能性は否定できない。また、流行地からの保護動物が未発生地域の動物病院に持ち込まれた例もある。未発生地域でも注意が必要である。

一方で、SFTSウイルス感染によりヒトと同様のSFTS様疾患を発症するかどうかについては動物種間で差があり、ほとんどの動物は無症候で耐過すると考えられている。その中で、比較的感受性が高いネコ科動物であるネコやチーターやイヌは致死的なSFTS様疾患を発症する。最近野生動物であるアナグマのSFTS感染死が見つかった。発症動物から人(獣医師・飼い主・動物医療関係者)への



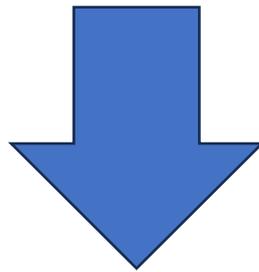
マダニ媒介SFTSの感染環

発表内容

- SFTS概要
- R6年度:レファレンスセンター研修会
- R5年度:レファレンスセンター研修会報告
- 狂犬病診断用抗原スライド配布
- 狂犬病ブロック技術研修会について

今後の要望・課題

- 対面形式での実習の要望は多い
- 参加人数に合わせて研修時間やボリュームの工夫が必要
- 東日本からも参加しやすい会場の確保



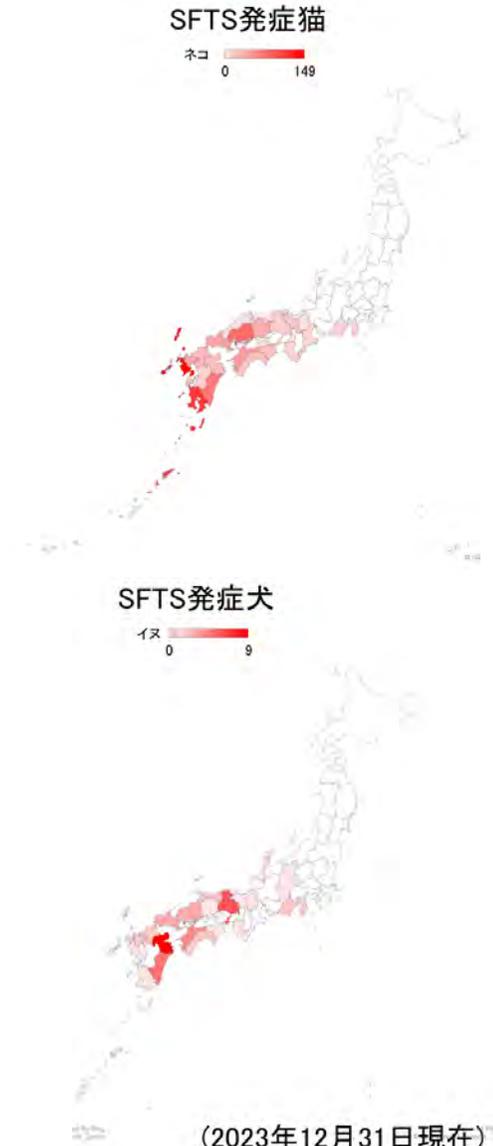
令和6年度動物由来感染症レファレンスセンター研修会

国立感染症研究所村山庁舎6号棟
(東京都武蔵村山市学園4-7-1)で開催

今後取り上げてほしいテーマ

- SFTSのELISA 2015年度にEQA実施
- 蚊媒介性感染症
- ダニ媒介感染症(ツツガムシ、日本紅斑熱)
- レプトスピラ
- カブノサイトファーガ
- ブルセラ 2011、2017年度にEQA実施
- 野兔病 2009、2010、2016年度にEQA実施
- 鳥インフルエンザ
- ニパウイルス
- バベシア

青字は獣医科学部で実施可能

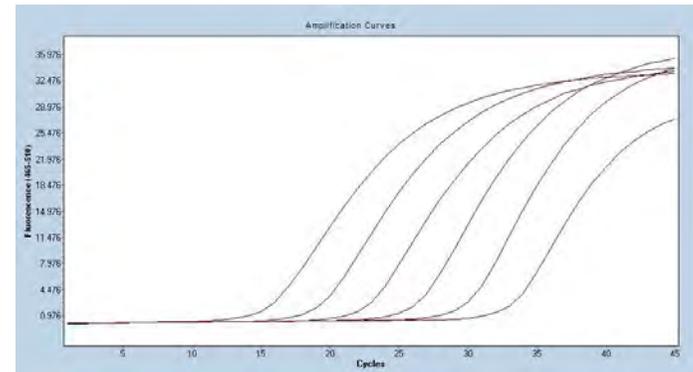


R6年度レフェレンスセンター研修会

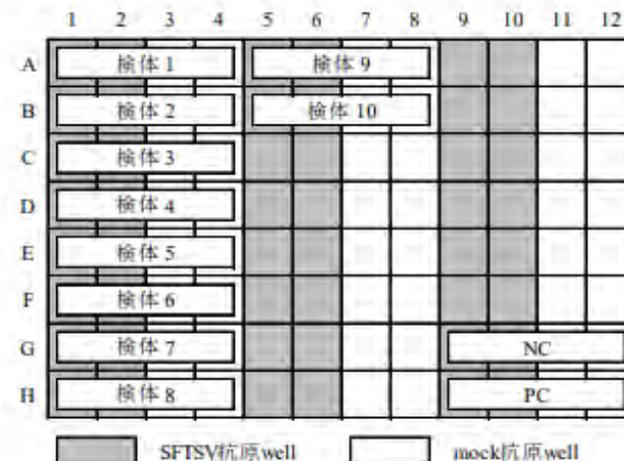
令和6年11月19・20日実施予定

Real-time RT-PCR法による遺伝子検出

病原体検出マニュアル
重症熱性血小板減少症候群(SFTS)ウイルス
(動物由来検体)



ELISA法による抗体検出



第1版
令和5年3月

図2 ELISA用プレートレイアウト(例)

SFTS検査実習 スケジュール案

1日目 (11月19日 火曜日)	
11:45~	入庁手続き(IDカード受取)
12:00	集合 挨拶、施設説明、趣旨説明、参加者自己紹介、スタッフ紹介
12:20	バイオセーフティ講習
13:20	休憩 実習班分け
13:35	講義 SFTS概論、検査法
14:00	SFTS検査実習 Real time PCR
17:00	SFTS検査実習 ELISA:抗原コーティング
18:00	1日目終了
2日目 (11月20日 水曜日)	
8:40	集合
9:00	SFTS検査実習 ELISA
13:00	休憩
13:30	結果検証、解説、ディスカッション
14:20	終了、アンケート配布(IDカード回収)
14:30	解散



村山庁舎実習室

発表内容

- SFTS概要
- R6年度:レファレンスセンター研修会
- R5年度:レファレンスセンター研修会報告
- 狂犬病診断用抗原スライド配布
- 狂犬病ブロック技術研修会について

令和5年度動物由来感染症レファレンスセンター研修会

日時：令和6年1月17日（月） 12:45～17:45

令和6年1月18日（火） 9:40～15:00

場所：国立感染症研究所 村山庁舎 6号棟

内容：野兔病の検査法研修



11月8日 メールにて開催案内の送付、出席希望者のとりまとめを地域ブロック担当者に依頼
→15名の参加者決定

1月10日 グループワークに使用する事前アンケート調査

1月17～18日 実習の開催

研修会参加者

地区ブロック	参加者
北海道・東北・新潟	1名
関東	3名
東海・北陸	3名
近畿	1名
四国	3名
中国	2名
九州	2名

参加者：15名（地方衛生研究所）

スタッフ：感染研職員6名

当日のスケジュール

1日目 (1月17日 水曜日)

12:45~	入庁手続き
13:00	集合 施設説明、趣旨説明、参加者自己紹介、スタッフ紹介
13:20	バイオセーフティ講習
14:20	講義 野兔病の検査法
15:00	休憩 実習班分け
15:15	野兔病の検査実習 (コロニー観察、グラム染色、血清抗体検査、PCR)
17:40	1日目終了

2日目 (1月18日 木曜日)

9:40	集合
9:45	検査結果の観察
11:00	記録、まとめ
12:00	昼食
12:45	グループディスカッション (バイオテロへの備えについて)
13:15	結果発表、解説
14:20	終了、アンケート配布
14:30	解散

抗体力価測定（微量凝集反応）

疑似血清検体について、陽性および陰性コントロールとともに凝集力価を測定

目標：手技確認、凝集像と力価の読み取り



各班の検査結果（血清学的検査）

		班				
		1	2	3	4	5
対照	強陽性	>1280	>1280	>640	640	>1280
	弱陽性	160	80	80	160	160
	陰性	-	<10	<5	0	<10
疑似検体	No.1	160	160	80	160	160
	No.2	80	80	40	80	80
	No.3	320	160	160	160	160

凝集が認められなかった場合の力価の表し方、今回は「<10」。-、0とは示さない
力価は最終希釈倍数で示す。>640、<5はそれぞれ>1280、<10となる。
* 強陽性の力価は320-は640倍が理想（今回は急遽調整したもので強過ぎでした。）
各班とも試験自体はうまくできていました。

生菌検査

培養 グラム染色 オキシダーゼ試験

Francisella tularensis subsp. *holarctica* (F.t.h.)

Francisella tularensis subsp. *novicida* (F.n.)

Francisella hispaniense (F.h.)

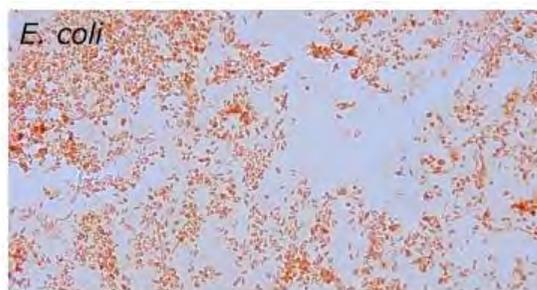
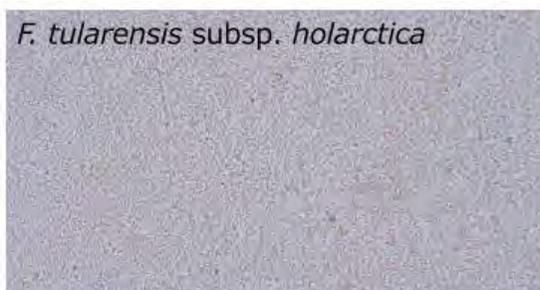
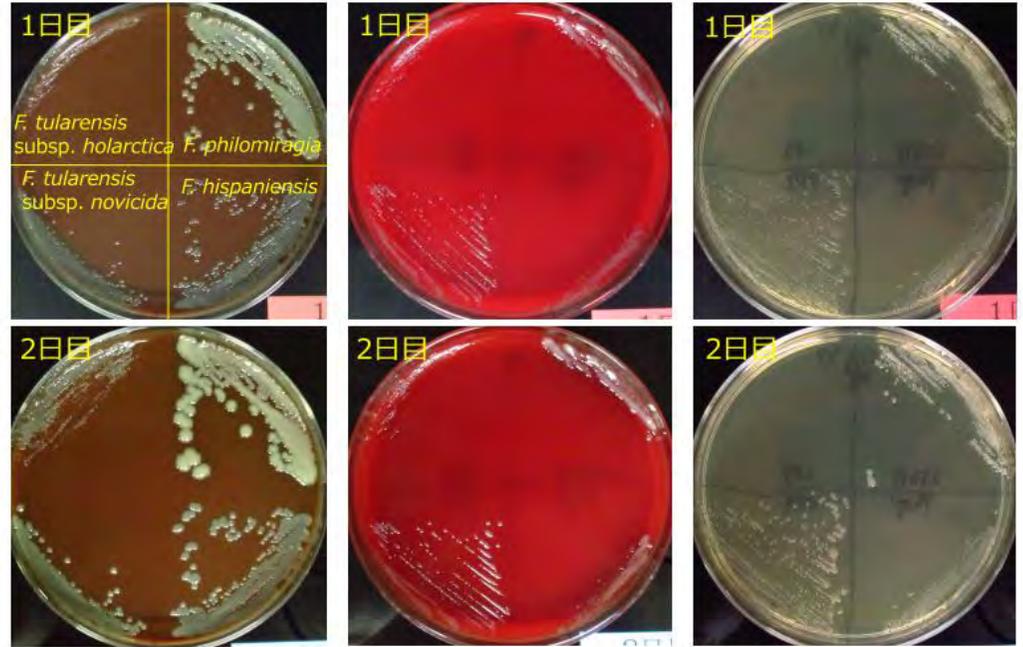
Francisella philomiragia (F.p.)

グラム染色対照菌

G+ : *Bacillus subtilis*

G- : *Escherichia coli*

培養



Francisella 属菌は *E. coli* と比較して小さい

野兔病菌は *Francisella* 属菌の中でもさらに小さいが、光学顕微鏡下では判別困難

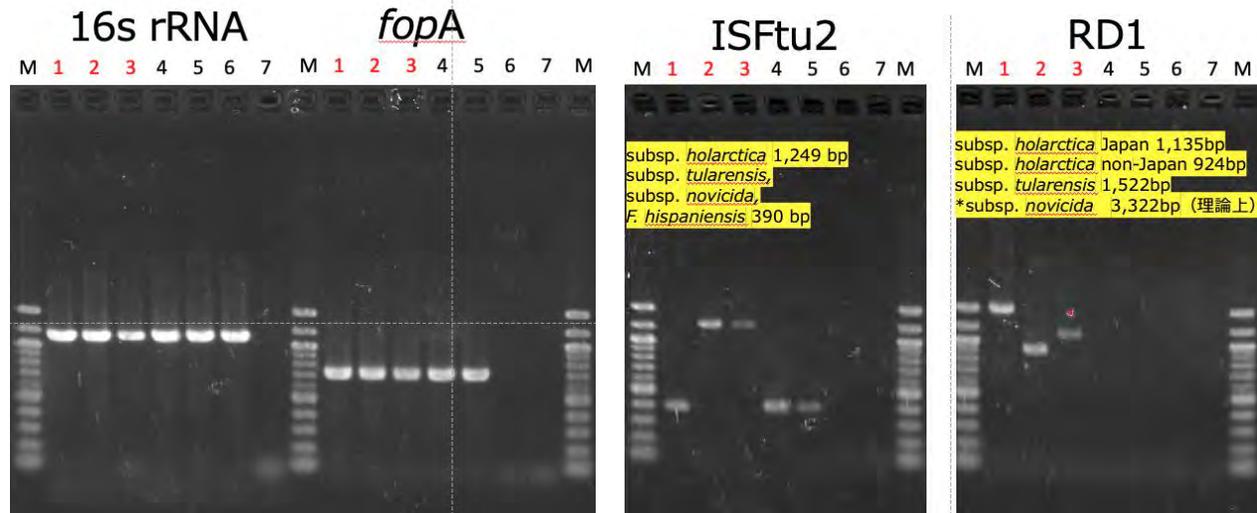


野兔病診断のための実習はBSL2実験室で行った

PCR

目標：野兔病菌遺伝子を検出する

1. *Francisella tularensis* subsp. *tularensis*
2. *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* non-Japan 野兔病菌
3. *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* Japan (日本分離株)
4. *Francisella tularensis* subsp. *novicida*
5. *Francisella hispaniensis*
6. *Francisella philomiragia*
7. *Escherichia coli* (それぞれ 1 ng/μl)



実際は16S rRNAと*fop A*のPCRで野兔病菌が疑われた場合、ISFtu2とRD1領域の増幅を確認

バイオテロに対する備えについて

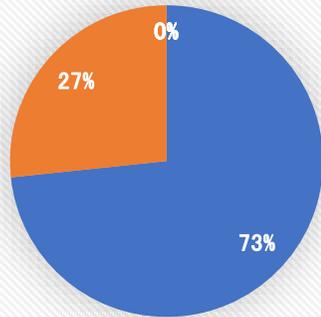
グループワーク

1. 「毒劇物・爆発物でないことが確認されているか」「科学捜査研究所で対応できない生物学的検査の検査協力（依頼）」など、事件発生から、検査依頼までの警察、衛生研究所間の連絡体制は構築されているか？
2. 大規模なバイオテロが発災した場合（or 発災が大規模へ発展した場合）、地方衛生研究所で検査対応することは可能か？
3. 現在の検査体制で対応可能なバイオテロの規模は？
 - a. 1日あたりの検査数
 - b. 対応可能な期間
 - c. 対応不可になった場合の対策（他機関との連携や支援体制）

- 各グループで、上記項目について、各地衛研の状況、課題とその解決方法をまとめた上、グループ代表者から、発表（提案）下さい。
- （可能であれば）各グループからの発表後、次に、
 - ・ 代表者もしくは調整者は他のグループと協議の上、
 - ・ もしくは、代表者もしくは調整者が一ヶ所へ集まり、協議の上、より良い解決法を検討し、自グループへ持ち帰り、解決法を協議・提案ください。

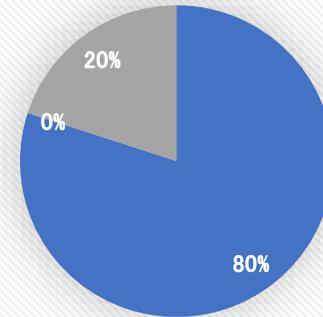
研修後のアンケート調査

研修の満足度



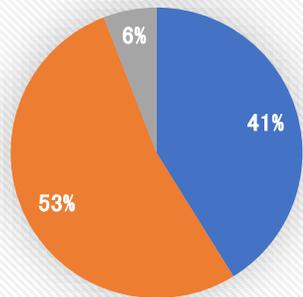
■ とても有意義 ■ 有意義 ■ 普通 ■ 意義がやや薄い ■ 意義が薄い

開催場所の希望



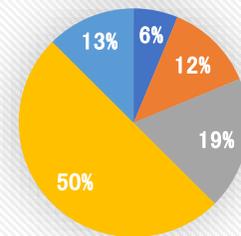
■ 東京以外にない ■ 山口大学 ■ その他

開催時期の希望



■ 10-11月 ■ 12-1月 ■ 2-3月

実技:座学の割合についての希望



■ 1:1 ■ 2:1 ■ 3:1 ■ 4:1 ■ 5:1

検査実技研修会 まとめ

野兔病診断のための実習は有意義な実習となり、今後も定期的な開催が望まれる

今後の課題：

→各参加者が実技を経験できるよう、実習形態の工夫（人数、時間、スペースなど）要検討

発表内容

- SFTS概要
- R6年度:レファレンスセンター研修会
- R5年度:レファレンスセンター研修会報告
- **狂犬病診断用抗原スライド配布**
- 狂犬病ブロック技術研修会について

狂犬病診断用抗原スライド配布について

希望施設と必要枚数を調査、送付

過去の実績

年度	調査方法	自治体数	抗原スライド数	RT-PCR用陽性コントロールDNA
R5	希望数を調査	32	231	1
R4	-	-	-	-
R3	希望数を調査	44	410枚	77本
R2	個別依頼	1	35枚	-
R1	希望数を調査	19	325枚	-
H30	-	-	-	-
H29	希望数を調査 個別依頼	- 1	229枚 5枚	-
H28	希望数を調査	-	243枚	-
H27	希望数を調査 個別依頼	24 1	225枚	-

狂犬病診断用抗原スライド配布について 希望施設と必要枚数を調査、送付

昨年度スケジュール

12月25日 スライド送付に関する希望調査依頼を基幹7名の担当者に送付

併せて狂犬病診断実績、研修実績についても調査を依頼

1月19日 計196枚のスライド配布希望、スライド作成開始

2月14日～26日 順次発送

狂犬病検査および技術研修実績について

地域ブロック	地衛研数		検体検査実績			技術研修実績		
			2021年度	2022年度	2023年度 (4-9月)	2021年度	2022年度	2023年度 (4-9月)
北海道・東北・新潟	12	組織数	0	0	1	2	0	3
		総回数	0回	0回	1回	2回	0回	3回
東海・北陸	9	組織数	0	0	0	1	1	0
		総回数	0回	0回	0回	2回	2回	0回
関東・甲信・静岡	16	組織数	3	4	1	5	9	1
		総回数	12回	18回	1回	10回	15回	1回
近畿	13	組織数	1	1	1	1	6	0
		総回数	4回	6回	2回	1回	6回	0回
四国	4	組織数	2	2	0	0	2	1
		総回数	7回	7回	0回	0回	1回	1回
中国	7	組織数	1	0	0	1	1	0
		総回数	1回	0回	0回	1回	1回	0回
九州	12	組織数	2	2	1	4	5	3
		総回数	8回	10回	1回	4回	7回	3回

陽性スライド配布実績

全国32地衛研へ計231枚(予備を含む)配布

地域ブロック	地衛研数	陽性スライド配布	
北海道・東北・新潟	12	組織数	6
		枚数	25枚
東海・北陸	9	組織数	3
		枚数	17枚
関東・甲信・静岡	16	組織数	9
		枚数	44枚
近畿	13	組織数	4
		枚数	32枚
四国	4	組織数	3
		枚数	29枚
中国	7	組織数	3
		枚数	15枚
九州	12	組織数	6
		枚数	34枚

※1地衛研よりPCRのための陽性cDNAの配布希望：併せて送付

狂犬病診断用抗原スライド配布について まとめ

狂犬病検査、研修実施状況は自治体によって様々
陽性スライド配布は全国から希望があり、今後も継続する必要性

※検討課題

基幹から各地衛研へ送付する際に必要な消耗品(ドライアイス、梱包資材など)の予算確保について

発表内容

- SFTS概要
- R6年度:レファレンスセンター研修会
- R5年度:レファレンスセンター研修会報告
- 狂犬病診断用抗原スライド配布
- **狂犬病ブロック技術研修会**

衛生微生物技術協議会第44回研究会
レファレンスセンター等関連会議

狂犬病ブロック技術研修会について

動物の狂犬病調査ガイドライン (2014)

- 疑い犬(猫)への対応
- 野生動物 (※ 咬傷事故等の加害動物、行動異常、交通事故死)

◇ **第一優先候補種:** アライグマ
タヌキ
アカギツネ
ファイリマンゲース

◇ **第二優先候補種:** アナグマ、ハクビシン、
チョウセンイタチ、テン

◇ **第三優先候補種:** コウモリ

狂犬病の検査対応と連携

地方自治体 (公衆衛生部局)

健康増進課等

生活衛生課等

衛生研究所

動物管理センター

保健所

病原体検査

感染源動物

(捕獲・解剖)

患者の対応

市民の相談

自治体間で検査対応能力の差あり

各自治体が狂犬病の疑い動物の検査をできることが望ましい

狂犬病ブロック技術研修会（～2021年度）

- 2015年度：
東北地域（5県6市），近畿地域（2府2県10市），
中国地域（5県5市），四国地域（4県6市）
- 2016年度：
北陸地域（4県3市），九州・沖縄地域（5県4市）
- 2017年度：
中部地域（5県9市），北関東地域（4県11市），
九州・沖縄地域（5県1市）
- 2018年度：
九州・沖縄地域（6県4市）
- 2019年度
九州・沖縄地域（6県4市），北海道地区（1道、3市）
- 2020、2021年度 ウェブ開催（宮崎大学）

自治体内の狂犬病発生を
想定した机上訓練の実施

狂犬病発生時対応についてのグ
ループディスカッション実施

主な参加者は動物管理センター職員

狂犬病が発生した場合、本庁や衛研担当者の理解、協力が必要

狂犬病ブロック技術研修会（2022年度～）

参加者（本庁、保健所、衛研、動愛センター職員）

研修開催場所 国立感染症研究所村山庁舎（28名まで参加可）

解剖検体 実験動物（ビーグル犬）

2022年度 関東ブロック（18名）

2023年度 東北、北海道、北陸ブロック（15名）

1日目 (12月18日 月曜日) 開催地：村山庁舎

13:00~	入庁手続き
13:15	集合 6号棟講義室 挨拶、趣旨説明 (感染症対策課)、参加者およびスタッフ紹介
13:30	バイオセーフティ講習
14:30	講義 清浄国における狂犬病の検査
15:20	休憩
15:30~16:50	講義 狂犬病疑い動物の移送、解剖、除染、廃棄におけるバイオセーフティ 実習 犬模型による解剖方法の手技確認
17:05	連絡事項 1日目終了

2日目 (12月19日 火曜日) 開催地：村山庁舎

9:40	集合 6号棟講義室	
9:50~12:20	講義 狂犬病の検査方法	PPE装着、犬の解剖、脳の採材、スタンプ標本作製
	講義 人の狂犬病と疫学、ワクチン	
	蛍光顕微鏡検査 観察、模擬操作等	
12:30	昼食	
13:20~ 15:50	PPE装着、犬の解剖、脳の採材、スタンプ標本作製	講義 狂犬病の検査方法
		講義 人の狂犬病と疫学、ワクチン
		蛍光顕微鏡検査 観察、模擬操作等
16:00	解剖・検査に関する質問、各自治体の対策状況についての情報共有、アクティブラーニングの説明	
17:00	連絡事項 2日目終了	

3日目 (12月20日 水曜日) 開催地：戸山庁舎

9:30	集合 共用第一会議室へ移動
9:50	狂犬病発生時対応アクティブラーニング
11:50	アンケート記入
12:00	終了

本年度の予定

12月上旬予定 3日間（9月末には決定）

国立感染症研究所 村山庁舎（1、2日目）、戸山庁舎（3日目）

近畿ブロック自治体 狂犬病発生時対応担当職員

（少数の場合、他のブロック自治体を追加）